

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA

ESCUELA DE POST-GRADO

ESPECIALIDAD DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS



“DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEÍNA Y COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN ACCESIONES DE KIWICHA (*Amaranthus*  
*caudatus* L., 1753) TOSTADA”

Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae

FLOR DE MARÍA VÁSQUEZ CASTILLO

Lima-Perú

2006

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**

**ESCUELA DE POST-GRADO**

**ESPECIALIDAD DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**“DIGESTIBILIDAD *IN VITRO* DE PROTEINA Y COMPUESTOS  
BIOACTIVOS EN ACCESIONES DE KIWICHA (*Amaranthus  
caudatus* L., 1753) TOSTADA”**

Tesis para optar el Grado de  
**MAGÍSTER SCIENTIAE**

**Flor de María Vásquez Castillo**

Sustentada y aprobada ante el siguiente Jurado:

~~Dra. Patricia Glorio Pautet~~  
**Presidente**

~~M. S. Riva Repo-Carrasco Valencia~~  
**Patrocinadora**

~~Mg. Sc. Gladys Tarazona Reyes~~  
**Miembro**

~~M. S. Gloria Pascual Chagman~~  
**Miembro**

## **DEDICATORIA**

**A Dios Padre Hijo y Espíritu Santo  
Misericordia y amor infinito  
Inmensa fuente de paz, luz y sabiduría, a la  
Siempre Bienaventurada Virgen María  
También a los ángeles del Cielo,  
Adoradores eternos de Dios que nos guían y protegen  
Doy gracias a los santos y santas del Cielo,  
Ejemplos de vida y de amor a Dios y a los  
Sembradores de un mundo mejor.**

**A mis padres: Germán y Rosa, a mis hermanos: David, Rosario y Germán. Por su orientación, comprensión y apoyo en las decisiones tomadas. A mis sobrinos: Diego, Adrian y Belén, Alexandra, Franco, Gianela, Romina, y Gaby.**

## AGRADECIMIENTOS

- A la Ing. Mg Sc Profesora Ritva Repo-Carrasco, por haberme confiado la elaboración del presente trabajo de tesis, así como por su apoyo y orientación.
- A la Ing Gloria Pascual, a la Dra. Patricia Glorio, a la Ing Gladys Tarazona.
- Al Dr. Carlos Antonio Salas Vinatea y al Ing. Manuel Sigüeñas del Instituto Nacional de Investigación Agraria (INIA)
- Al señor Máximo Zuñiga, a Ana Palomino, Elizabeth Huacac, Karina Ccapa, Sr. Domingo Daga, Juan Maihuire, Liz, Sra. Julia Mansilla,
- A todos los profesores, alumnos y trabajadores de la UNALM, en especial a los de la facultad de Industrias Alimentarias, de la Escuela de Post-Grado y de la BAN.
- Al profesor Angeles Olivera, Aldo Medina de la Facultad de Estadística
- A todas las personas que de una u otra manera ayudaron a la culminación del presente trabajo.

## INDICE DE CONTENIDO

Página

INDICE DE CONTENIDO	
INDICE DE CUADROS	
INDICE DE FIGURAS	
INDICE DE ANEXOS	
RESUMEN	
I. INTRODUCCION	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Kiwicha	3
2.1.1. Clasificación sistemática de la kiwicha	4
2.1.2. Nombres comunes del <i>amaranthus caudatus</i> Linneo	7
2.1.3. Producción y Rendimiento de la Kiwicha	8
2.1.4. Características agronómicas del cultivo de kiwicha	11
2.1.5. Características del grano	12
2.1.6. Composición química de la kiwicha	14
2.1.6.1. Proteína de la kiwicha	16
2.1.6.1.1. Valor biológico de la proteína	16
2.1.6.1.2. Cómputo de aminoácidos	19
2.1.6.1.3. Digestibilidad proteica	22
2.1.6.2. Lípidos de la kiwicha	26
2.1.6.3. Carbohidratos de la kiwicha	27
2.1.6.4. Los minerales de la kiwicha	28
2.1.6.5. Vitaminas de la kiwicha	29
2.1.6.6. Componentes menores de la kiwicha	32
2.1.6.7. Fibra dietética	36
2.1.7. Usos de la Kiwicha	39
2.1.8. Efectos de los procesamientos en la kiwicha	41
2.1.9. Harina Tostada de Kiwicha	44
2.2. Alimentos Funcionales	45
2.2.1. Clasificación de los alimentos funcionales	49
2.3. Antioxidantes Naturales	52
2.3.1. Clasificación	55
2.3.2. Radicales libres y antioxidantes	59
2.3.3. Capacidad Antioxidante	62
2.3.3.1. Metodología para el análisis de la	

2.4. Efecto de algunos tratamientos sobre los compuestos antioxidantes	70
2.5. Compuestos Fenólicos	71
2.5.1. Generalidades	71
2.5.2. Estructura química y clasificación	79
2.5.3. Función Antioxidante	90
2.5.4. Acciones farmacológicas de los flavonoides	95
2.5.5. Metodología para el análisis de compuestos fenólicos	96
2.6. Fitatos	97
2.6.1. Efectos farmacológicos del ácido fitico	104
2.6.2. Metodología para el análisis de fitatos	105
2.7. Digestibilidad <i>in vitro</i> de las proteínas	106
2.7.1. Metodología para el análisis de digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína	109
III. MATERIALES Y METODOS	111
3.1. Lugar de Ejecución.	111
3.2. Materiales	111
3.2.1. Materia Prima	111
3.2.2. Equipos	112
3.2.3. Materiales	112
3.2.4. Reactivos	113
3.3. Métodos de Análisis	114
3.3.1. Composición proximal	114
3.3.2. Compuestos fenólicos totales	115
3.3.3. Capacidad antioxidante	115
3.3.4. Fitatos	117
3.3.5. Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína	118
3.4. Metodología Experimental	118
3.4.1. Obtención de la harina tostada de kiwicha	118
3.5. Diseño Experimental y análisis estadístico	120
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	124
4.1. Composición proximal de la kiwicha	124
4.2. Contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha cruda	129
4.3. Capacidad antioxidante del grano de kiwicha	131
4.3.1. DPPH ( 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl)	131
4.3.2. ABTS (2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))	134

4.3.4. Relación entre la CA por ABTS y la CA por DPPH	140
4.3.5. Relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales	141
4.4. Contenido de fitatos de la kiwicha cruda	143
4.5. Compuestos fenólicos totales del grano de kiwicha tostada	144
4.6. Capacidad antioxidante del grano de kiwicha tostada	146
4.7. Contenido de fitatos en el grano de kiwicha tostada	149
4.8. Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína de la kiwicha tostada	151
4.9. Relación entre la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales	154
V. CONCLUSIONES	156
VI. RECOMENDACIONES	159
VII. BIBLIOGRAFÍA	161
VIII. ANEXOS	171

## INDICE DE CUADROS

N° Título	Página
1. Nombre conocido del <i>Amaranthus caudatus</i> según su localización	8
2. Producción de kiwicha según departamentos, 2003 (TM)	9
3. Producción de kiwicha, 1990-2004	10
4. Composición química de semillas de kiwicha en base seca	14
5. Composición próxima de los cereales y granos andinos (g/100 g b.s.)	14
6. Composición química promedio del <i>Amaranthus caudatus</i> en comparación con otras especies	15
7. Aminoácidos esenciales de <i>Amaranthus caudatus</i> Linneo en comparación con otros cereales (gramos de AA/16 gramos de N.)	18
8. Contenido de aminoácidos y cómputo químico de la proteína del Amaranto (mg aa/g de proteína)	19
9. Contenido de lisina, metionina y triptófano en granos andinos y en trigo (mg de aminoácidos/g de proteínas)	20
10. Digestibilidad de algunos alimentos	23
11. Ejemplo de cálculo de la ingesta recomendada de proteínas de una dieta mixta latinoamericana	24
12. Composición del aceite de la semilla de amaranto.	27
13. Composición de los minerales que contiene el grano de <i>Amaranthus caudatus</i> Linneo.	29
14. Contenido de vitaminas de las semillas de amaranto y quinua.	30
15. Componentes menores del amaranto y la quinua	33
16. obtenido por aplicación de extracción fase sólida y método HPLC fase inversa	34
17. Contenido de fibra dietaria total (FDT), fibra dietaria insoluble (FDI) y fibra dietaria soluble (FDS) en cereales (g/100g demateria seca)	37
18. Efectos de diferentes tratamientos sobre las características nutritivas de las proteínas de amaranto y quinua.	42
19. Contenido de almidón y azúcares en grano de amaranto germinado (g/100g)	44
20. Composición proximal del grano crudo y la harina tostada de kiwicha	44
21. Componentes funcionales de algunos alimentos	47
22. Antioxidantes presentes en determinados microambientes	58
23. Capacidad Antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología ABTS a 734 nm	68
24. Capacidad Antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología DPPH a 515 nm	69

25. Contenido de compuestos fenólicos totales (mg ác. clorogénico/100g. bh) en algunos vegetales	76
26. Contenido de fenólicos totales en algunos cereales y vegetales ( g de ác. gálico equiv/100 g peso seco)	77
27. Contenido de fenólicos totales de algunos vegetales y frutas (mg ac. Clorogénico/100 g , bh)	78
28. Clasificación de los compuestos fenólicos	82
29. Contenido de ácido fitico en algunos alimentos	103
30. Acciones de kiwicha utilizadas en el trabajo de investigación	111
31. Composición proximal de las 10 acciones de kiwicha cruda en base húmeda	125
32. Composición proximal de las 10 acciones de kiwicha cruda en base seca	127
33. Comparación de resultados de capacidad antioxidante obtenidos con los métodos DPPH y ABTS en 10 acciones de kiwicha	136
34. CA (promedio entre 3 repeticiones de DPPH y 3 repeticiones de ABTS) en ug Eq Trolox/g muestra, bs, ordenado de mayor a menor.	139
35. Contenido de fitatos en el grano de kiwicha cruda	143
36. Contenido de fenólicos totales (mg de equiv. de ácido gálico /100 g de muestra) de las 5 acciones de kiwicha cruda, tostada a 100 °C y a 150 °C	144
37. Capacidad Antioxidante (µg Equiv. Trolox/g de muestra, bs) de las 5 acciones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y 150°C	147
38. Contenido de fitatos (%) de la acción 2 de kiwicha tostada a 100 °C y150°C (bh y bs)	149
39. Digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína (promedio de 3 repeticiones) de 5 acciones de kiwicha tostada (%)	152

## INDICE DE FIGURAS

Nº	Título	Página
1.	Producción de kiwicha según departamento, 2003 (%)	9
2.	Corte longitudinal del grano de amaranto	13
3.	Radical DPPH	65
4.	Radical ABTS	66
5.	Ruta biogenética para los flavonoides	72
6.	Compuestos de los cuales deriva la lignina	73
7.	Núcleo básico de un flavonoide	79
8.	Clases de flavonoides: núcleo básico y ejemplos	80
9.	Algunos compuestos flavonoides (a) y no flavonoides (b)	83
10.	Estructura del fitato o ácido myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis (dihidrogenofosfato) (IUPAC, 1968)	98
11.	Flujo de procesamiento para la obtención de harina tostada de kiwicha	119
12.	Diseño Experimental	121
13.	Contenido promedio de fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha expresados en a) ácido gálico y en b) ácido clorogénico en bs.	129
14.	Capacidad antioxidante promedio de 10 accesiones de kiwicha cruda empleando el método del DPPH a 515 nm (a) base húmeda y (b) base seca	133
15.	Capacidad antioxidante promedio de 10 accesiones de kiwicha cruda empleando el método del ABTS a 734 nm (a) base húmeda	135
16.	Comparación de resultados de capacidad antioxidante obtenidos con los métodos DPPH y ABTS en 10 accesiones de kiwicha cruda, bs	137
17.	Contenido de fenólicos totales (mg de equiv. de ácido gálico /100 g de muestra) de las 5 accesiones de kiwicha cruda, tostada a 100 °C y 150 °C	145
18.	Contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y a 150°C en bs	152
19.	pH versus tiempo de incubación de la proteína de kiwicha con la solución multienzimática	153

## INDICE DE ANEXOS

Nº	Título	Página
1.	Preparación de la muestra (para cereales) para la determinación de la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS), fenólicos totales.	172
2.	Determinación de fenólicos totales	173
3.	Determinación de capacidad antioxidante por DPPH	176
4.	Determinación de capacidad antioxidante por ABTS	178
5.	Determinación cuantitativa de ácido fitico en cereales y derivados	180
6.	Determinación de digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína	182
7.	Análisis de varianza para la composición proximal de las 10 accesiones de kiwicha cruda	184
8.	Medidas de absorbancia a 725 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología para polifenoles totales para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado.	188
9.	Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g	189
10.	Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido clorogénico/100 g	190
11.	Medidas de absorbancia a 515 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del DPPH para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado	191
12.	Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 10 accesiones de kiwicha cruda con DPPH a 515 nm, expresado en ug eq Trolox/ g	194
13.	Medidas de absorbancia a 734 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del ABTS para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado	195
14.	Medidas de absorbancia a 725 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología para polifenoles totales para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.	197
15.	Medidas de absorbancia a 515 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del DPPH para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.	199
16.	Medidas de absorbancia a 734 nm con respecto al tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del ABTS para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.	201

17. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 10 accesiones de kiwicha cruda con ABTS a 734 nm, expresado en ug eq Trolox/ g	204
18. Análisis de Varianza para la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha cruda	205
19. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método de ABTS y el método del DPPH	208
20. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método de DPPH y el método del ABTS	210
21. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método del DPPH y los compuestos fenólicos totales	212
22. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método del ABTS y los compuestos fenólicos totales	214
23. Resultados de la cuantificación de fitatos de kiwicha cruda, expresados en (%)	216
24. Resultado de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g. de la kiwicha tostada a 100°C y a 150°C en base húmeda	217
25. Resultado de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g. de la kiwicha tostada a 100°C y a 150°C en base seca	218
26. Análisis de varianza para ver el efecto del tostado en el contenido de fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha	219
27. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con DPPH a 515 nm, expresado en ug eq Trolox/g en base húmeda	223
28. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con DPPH a 515 nm, expresado en ug eq Trolox/g en base seca	224
29. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con ABTS a 734 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base húmeda	225
30. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con ABTS a 734 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base seca	226
31. Análisis de varianza (ANVA) para ver el efecto del tostado en la capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha	227
32. Resultados del contenido de fitatos en la accesión 2 de kiwicha, bh	232
33. Resultados del contenido de fitatos en la accesión 2 de kiwicha, bs	233

34. ANVA con DCA para ver el efecto del tostado en el contenido de fitatos (%) de la accesión 2 de kiwicha en base seca	234
35. Resultados del contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y a 150°C, en base húmeda	237
36. Resultados del contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y a 150°C, en base seca	238
37. Resultados de la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína de 5 accesiones de kiwicha en base húmeda tostada a 100°C y 150°C	239
38. Resultados de la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína de 5 accesiones de kiwicha en base seca tostada a 100°C y 150°C	240
39. pH a través del tiempo (10 minutos) de incubación con la solución multienzimática de la proteína de kiwicha tostada a a: 100°C, b: 150°C de las 5 accesiones de kiwicha con mayor capacidad antioxidante en crudo. P: Promedio	241
40. ANVA con DBCA para ver el efecto de la temperatura de tostado en el porcentaje de digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína en 5 accesiones de kiwicha en base seca	242
41. Resultados de la relación entre la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína y los compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C en bs	245
42. Resultados de la relación entre la digestibilidad <i>in vitro</i> de proteína y los compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 150°C en bs	247

## RESUMEN

En el presente trabajo se determinó la capacidad antioxidante (CA) y el contenido de compuestos fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha cruda, proveniente de la Estación Experimental Santa Ana de Huancayo, además de su composición proximal.

De estas 10 accesiones de kiwicha se escogieron las 5 accesiones que tuvieron mayor CA: 87-25-I, EC-K CCA-051, EC-K CCA-062, ECOTIPO 2009 y Taray 90, las que fueron sometidas a tostado a 100°C y 150°C, posteriormente se realizaron análisis de Digestibilidad *in vitro* de proteína, CA por el método del DPPH y ABTS y contenido de compuestos fenólicos totales. Sólo a la accesión 87-25-I (que fue la que tuvo mayor CA en crudo), se le determinó su contenido de fitatos tanto en crudo como en tostado a 100°C y 150°C.

El contenido de compuestos fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha en base seca fue de 0.047 – 0.066% expresado en ácido gálico, resultó ser mayor al del grano de avena, trigo y cebada, sin embargo el contenido de compuestos fenólicos totales de los vegetales es mucho mayor.

La CA de las 10 accesiones de kiwicha por el método del DPPH fueron de 195.93 – 486.95 µg equiv. Trolox/g, bh, resultó ser mayor al del té verde, aceite de semilla de uva, propolio y colorante en polvo de ayrampo. Y por el método del ABTS fue de 1039.69 – 1181.70 µg equiv. Trolox/g, bh, resultando menor al del maíz morado y camote morado entre otros.

La CA hidrofílica por el método del ABTS en las 10 accesiones de kiwicha resultó ser significativamente mayor que con el DPPH hasta en un 82.5%, no existiendo efecto de regresión lineal entre la CA por ABTS y la CA por DPPH y viceversa.

El contenido de fitatos en promedio en base seca de la accesión 87-25-I de kiwicha cruda, tostada a 100°C y a 150°C fueron: 0.7560%, 0.4022% y 0.4097% respectivamente, habiendo semejanza entre los valores de las 2 últimas.

El contenido de compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C fueron de: 0.054% - 0.062% y de 0.055% - 0.073% respectivamente, expresado en ácido gálico, siendo significativamente mayor las tostadas a 150°C, luego las de 100°C y por último las kiwichas crudas.

La capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C por el método de DPPH fue 358.37 - 468.62 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y por el método del ABTS fue de 941.52 – 1462.34 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y a 150°C por el método del DPPH fue de 450.41 – 530.4 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y por el método del ABTS fue de 902.17 – 1452.4 ug equiv. trolox/g de muestra en bs. La capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y a 150°C son semejantes, siendo mayor con el método del ABTS que con el DPPH.

La digestibilidad *in vitro* de proteína, en base seca, de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C fue de 94.78 – 95.52 % y de la kiwicha tostada a 150°C fue de 92.93- 94.82%. Resultó ser significativamente mayor en la kiwicha tostada a 100°C que a 150°C. Además no existe efecto de la regresión lineal de la digestibilidad *in vitro* de proteína sobre el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C ni a 150°C.

Concluyéndose que las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C es mejor en *digestibilidad in vitro* de proteína, semejante en fitatos y en capacidad antioxidante, y menor en compuestos fenólicos que las 5 accesiones de kiwichas tostadas a 150°C.

## I.- INTRODUCCIÓN

Además del criterio del contenido en aminoácidos esenciales, la calidad de una proteína también se mide por su digestibilidad y en general, por su capacidad de impulsar el crecimiento corporal (Moreno, 2000).

Es importante conocer la digestibilidad *in vitro* de la kiwicha tostada ya que es un gran alimento, el mejor de todos los cereales, pues contiene alta cantidad de lisina y metionina, siendo el primero muy importante para el desarrollo de los huesos y de la sangre (Castro, 1986; citado por Apaza, 1996) así como de la inteligencia, la memoria y el aprendizaje; y el segundo importante como fuente principal de azufre y necesario para el metabolismo de la insulina (Giga, 1998). Por otra parte su digestibilidad en crudo es mayor que la quinua. El presente estudio se realizó a la kiwicha tostada ya que esa es la forma comúnmente consumida.

Actualmente es importante conocer sus compuestos bioactivos como son su contenido de fitatos, contenido de compuestos fenólicos totales, así como su capacidad antioxidante ya que estos juegan un papel importante en la prevención y tratamiento de varias enfermedades entre ellas el cáncer, además estas características no han sido muy estudiadas en este alimento nativo del Perú.

Los objetivos del presente estudio fueron:

- Determinar la capacidad antioxidante y contenido de fenólicos totales en 10 accesiones de kiwicha cruda.
- Determinar el efecto de 2 temperaturas de tostado de kiwicha en su digestibilidad *in vitro* y en el contenido de: fenólicos totales y la capacidad

antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha cruda con mayor capacidad antioxidante.

- Determinar el efecto del tostado en el contenido de fitatos, de 1 accesión de kiwicha con mayor capacidad antioxidante.

## II.- REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Kiwicha

El grano de amaranto se domesticó en América hace más de 4000 años por culturas precolombinas y de allí posiblemente se difundió a otras partes del mundo. Fue cultivada y utilizada junto al maíz, frijol y calabaza por los aztecas en el valle de México, por los Mayas en Guatemala y por los Incas en Sudamérica, tanto en Perú, Bolivia como Ecuador junto a la papa, maíz y quinua (Mujica, 1997 citado por Aparcana, 1999).

Según el mismo autor, el género *Amaranthus* comprende más de 70 especies, de las cuales la mayoría son nativas de América y sólo 15 especies provienen de Europa, Asia Africa y Australia.

La kiwicha es una planta tradicional y originaria de Bolivia y de algunos lugares de Sudamérica, ampliamente cultivada durante la época precolombina del continente americano (Tejerina y Arenas, 2001).

Sumar (1995) y Tapia (1990) citados por Aparcana (1999) consideran como centro de origen del *Amaranthus caudatus* al Perú, por ser una especie propia de las zonas andinas de climas templados y fríos, donde se desarrollaron culturas como Chavín (Ancash) e Inca (Cuzco), siendo considerado como alimento privilegiado del Inca; con la llegada y conquista de los españoles su cultivo fue disminuyendo hasta desaparecer casi por completo, pues era considerado un cultivo pagano porque los incas lo utilizaban además de alimento como ofrenda de sacrificio en sus ritos religiosos.

Recién en los años 60 el amaranto es considerado como buen alimento y su cultivo se torna importante en México, Guatemala y USA. (Sanchez ,1983; citado por Macedo, 1990).

La kiwicha produce granos o semillas que contienen un alto valor nutritivo, con gran contenido de proteína digerible, de fibra, además de una sorprendente cantidad y composición de minerales y aminoácidos; su dulce natural y su agradable sabor a nuez hacen que sea considerado como un delicioso alimento.

La kiwicha es uno de los cultivos mas promisorios del mundo; en 1975 la Academia Nacional de Ciencias en Estados Unidos, seleccionó a la kiwicha como uno de los 36 cultivos mas prometedores del mundo, determinando que la “kiwicha es el mejor alimento de origen vegetal para consumo humano” (Tejerina y Arenas, 2001).

En la actualidad instituciones de investigación de países como México, Guatemala, Argentina, India, Rusia, Perú y Bolivia han confirmado su enorme potencial como fuente de alimento de alta calidad.

### **2.1.1. Clasificación sistemática de la kiwicha**

Según Engler citado por Castro (1987), es la siguiente:

REINO	Vegetal
DIVISIÓN II	Espermatofitas
SUB DIVISIÓN II	Angiospermas
CLASE II	Dicotiledóneas
SUB CLASE I	Arquiclamídeas
ORDEN	Centrospermales
SUB ORDEN	Quenopodiáceas
FAMILIA	Amarantáceas

SUB FAMILIA	Amarantáceas
TRIBU	Amarantaeae
GENERO	<i>Amaranthus</i>
ESPECIE	<i>Amaranthus</i> Sp.

La taxonomía de los *Amaranthus* es aún confusa, una clave provisional para las especies comestibles, basado en el estudio de plantas en crecimiento (descripción floral) es proporcionado por Amador (1952) citado por Castro (1987) y considera las especies siguientes:

*Amaranthus tricolor*

*Amaranthus blitum*

*Amaranthus viridis*

*Amaranthus spinosus*

*Amaranthus dibiium*

*Amaranthus retroflexus*

*Amaranthus hybridus*

*Amaranthus hyponcondriacus*

*Amaranthus cruentus*

*Amaranthus caudatus*

A continuación se muestra los siguientes significados de las palabras o las que tienen alguna relación y que mayormente son usadas en la siguiente investigación:

**Accesión.-** Muestra de una planta, línea o población mantenida en un banco de germoplasma o programa de mejoramiento para conservación y uso. También, una muestra de germoplasma que representa la variación genética de una población. Conocida también como entrada.

**Ecotipo.**- Población (raza) local de una especie que presenta características botánicas peculiares, las cuales surgen como respuesta del genotipo a las características ecológicas típicas el ambiente local. Un ecotipo resulta de una adaptación muy estrecha de la planta a su ambiente local, donde la deriva genética puede revelarse como un agente selectivo de mayor importancia que los demás agentes de selección natural.

**Especie.**- Clasificación taxonómica formada por el conjunto de poblaciones naturales que pueden cruzarse entre sí real o potencialmente. Es decir, que se determina de forma empírica: dos individuos pertenecen a la misma especie si pueden generar descendencia reproducible; en caso contrario son de especies diferentes. Una unidad de clasificación, una subdivisión de un género. Un grupo de individuos íntimamente relacionados y descendientes de un origen común.

**Fenotipo.**- Apariencia final de un individuo que resulta de la interacción de su genotipo con un ambiente determinado. Características observables de un organismo. Apariencia física o externa de un organismo, en contraste con su constitución genética (genotipo). Un grupo de organismos de constitución física externa semejante. Conjunto de todos los caracteres aparentes, expresados por un organismo, sean o no hereditarios.

**Genotipo.**- Composición genética de un organismo, la suma total de todos sus genes, tanto dominantes como recesivos. Un grupo de organismos con la misma composición genética. Constitución genética, de uno o más genes, de un organismo en relación con un rasgo hereditario específico o a un conjunto de ellos.

**Germoplasma.**- Estructura que porta la suma total de características hereditarias de una especie. La palabra germoplasma supone que la estructura puede dar origen a una nueva generación, transmitiendo sus características genéticas, la variabilidad genética

total, representada por células germinales, disponibles para una población particular de organismos

**In Vitro.**- Fuera del organismo o en un medio artificial. Se aplica, por ejemplo, a células, tejidos u órganos cultivados en contenedores de cristal o de plástico.

**Línea.**- Grupo de individuos descendientes de un ancestro común. Es un grupo definido más estrechamente que una variedad.

**Variedad.**- Dentro de las especies cultivadas, planta que se diferencia por uno o más caracteres. Cuando se reproduce por semilla o asexualmente, estos caracteres se conservan. El término se considera sinónimo de cultivar. Una subdivisión de una especie. Una variedad agronómica es un grupo de plantas semejantes, que por características de estructura y comportamiento, se pueden diferenciar de otras variedades dentro de la misma especie.

### **2.1.2. Nombres comunes del *amaranthus caudatus* Linneo**

Esta planta tiene como en el caso de la quinua y kañihua, diferentes nombres locales. Según varios autores como Sumar (1995) citado por Aparcana (1999); Quinde (1995), Sanchez (1980) citados por Macedo (1990), Tejerina y Arenas (2001) los nombres comunes más usados en los países de la zona andina de Suramérica y México se muestran a continuación en el Cuadro 1.

El *Amaranthus caudatus* o kiwicha tiene su origen en los Andes de la América del Sur. Esta especie crece en zonas de Bolivia, Perú, Ecuador y Argentina. En México y América Central se encuentran otras especies de amaranto como el *Amaranthus cruentus* y *Amaranthus hypocondriacus*. En América del Norte se cultivan cuatro especies *Amaranthus edulis*, *A. retroflexus*, *A. tricolor* y *A. gangeticus*. Aparte de los

granos del amaranto también se utilizan sus hojas como hortalizas (Repo-Carrasco, 1998).

**Cuadro1. Nombre conocido del *Amaranthus caudatus* según su localización**

País	Nombre conocido del <i>amaranthus caudatus</i> Linneo
Argentina:	Kiwicha, ipacachaqui o quinua del valle, trigo inca
Bolivia:	Aroma, ataco, coime, coimi, cuimi, millmi.
Colombia:	Abanico, amaranto, bledo blanco
Ecuador:	Airampo, ataco o quinua negra, sangoroche
México:	Huautli
Perú:	Achís, achita, coimi, coyos, incajataco, kiwicha
Venezuela:	Hierba caracas, pira o amaranto.

**2.1.3. Producción y Rendimiento de la Kiwicha**

Las regiones de mayor producción de la kiwicha son Libertadores Wari, Chavín e Inca. Los rendimientos varían entre 600 y 1500 Kg./Ha. Los mayores rendimientos se han obtenido en Arequipa y Lima. En la zona de Majes, Arequipa, se han sembrado 320 Has con un rendimiento promedio de 2200 Kg./Ha (Castro, 1987).

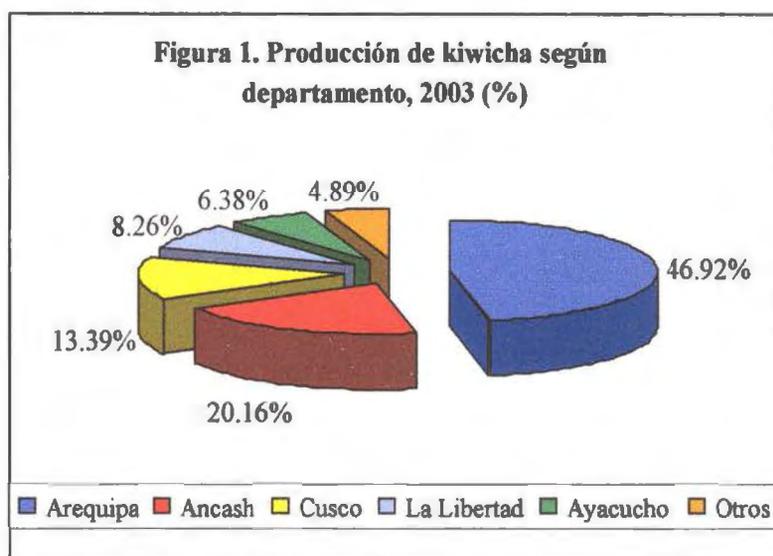
El Cusco se constituyó en 1994 como el primer productor nacional de kiwicha al haber participado con el 36% de la cosecha nacional. Le siguieron en orden de importancia: Ancash, Ayacucho y Huancavelica. En conjunto, los cuatro departamentos sumaron más de 95% de la producción total (Vásquez y Alza, 1998)

En el año 2003, la producción de kiwicha en TM según departamentos del Perú se muestra en el Cuadro 2 y Figura 1.

**Cuadro 2. Producción de kiwicha según departamentos, 2003 (TM)**

Departamentos	Porcentaje	TM
Arequipa	46,92%	1699
Ancash	20,16%	730
Cusco	13,40%	485
La Libertad	8,26%	299
Ayacucho	6,38%	231
Otros	4,88%	177

Fuente: I.N.E.I. (2004)



Fuente: I.N.E.I. (2004)

En el Cuadro 3 se muestra la superficie cosechada, producción, rendimiento y precio promedio en chacra de la kiwicha en el Perú desde el año 1990 al 2004, podemos darnos cuenta que a partir de 1996 aumentó en mayor proporción la producción y rendimiento de la kiwicha, y a partir de 1991 el precio promedio en chacra aumento 15 veces más que el año anterior, debido a que el valor de producción también creció debido quizás al mejoramiento en la técnicas agrarias ya sea abono, fertilizantes, capacitación a los agricultores, lo que originó además una mejora en el rendimiento (TM/Ha).

**Cuadro 3. Producción de kiwicha, 1990-2004**

Año	Superficie cosechada (Ha)	Producción (TM)	Rendimiento (TM/Ha)	Precio Promedio en chacra (N.Soles/TM)
1990	495	332	0,67	32,5
1991	652	455	0,70	490,0
1992	449	329	0,73	720,0
1993	567	550	0,97	1060,0
1994	777	782	1,01	1370,0
1995	941	825	0,88	1430,0
1996	1774	2275	1,28	1780,0
1997	2433	3720	1,53	2070,0
1998	1696	2001	1,18	1960,0
1999	1226	1374	1,12	2160,0
2000	1814	2697	1,49	2270,0
2001	2294	3394	1,48	2373,3
2002	1332	2078	1,56	2339,8
2003*	2185	3619	1,66	2230,9
2004a/	265	449	1,69	...

\*Preliminar. a/Información a abril

Fuente: Webb y Fernández (2004)

La demanda mundial por este grano es muy reducida; aunque desde la década de los ochenta se viene promoviendo su difusión y consumo a nivel internacional.

Concentrada su producción en pequeñas zonas altoandinas de Perú, Bolivia, Ecuador, Argentina, México y Guatemala. La kiwicha es destinada en forma sustantiva para satisfacer las necesidades de autoconsumo; de los productores, llegando en forma restringida al mercado de granos.

Sin embargo, en la última década se ha ido promoviendo la demanda de este producto en los Estados Unidos, China, India, Nepal, Corea, Venezuela y Nueva Zelanda, aunque todavía en baja escala. Su utilización en la alimentación de los astronautas de la nave Atlantis 71-B, en 1985, demuestra el reconocimiento mundial de este alimento andino.

El principal exportador mundial de kiwicha es el Perú. Le siguen con valores significativos Bolivia y Ecuador. En otros países, como por ejemplo, Estados Unidos, las pequeñas cosechas se canalizan a los mercados de productos naturistas y a panaderías, en Guatemala, el grano es utilizado en pequeña escala comercial en la alimentación de niños (Vásquez y Alza, 1998).

#### **2.1.4. Características agronómicas del cultivo de kiwicha**

Se trata de una planta (muy rústica) anual que alcanza gran desarrollo y elevada altura en los suelos fértiles, llegando en algunos casos hasta 2,6 metros.

Su ciclo vegetativo varía entre 120 a 180 días dependiendo de la variedad y zona donde se la cultiva (Sumar, 1985 citado por Macedo, 1990).

Además presenta inflorescencias grandes que pueden ser decumbentes, erectas y semi-erectas adoptando formas glomerulares o amarantiformes típicas, densas o laxas (Sumar, 1985 citado por Macedo, 1990).

El amaranto se cultiva en lugares muy variados, tolera un amplio rango de condiciones de suelo, crece adecuadamente en suelos fértiles y profundos, con buena dotación de materia orgánica, bien drenados. De manera general el amaranto requiere suelos de textura franca-arenosos y franco-arcilloso, aunque algunas especies pueden tolerar suelos alcalinos y ácidos, con alto contenido de sal y aluminio. También tienen gran capacidad para adaptarse a diferentes altitudes (desde el nivel del mar hasta 3500 m.s.n.m.) (Tejerina y Arenas, 2001).

El amaranto granífero crece mejor cuando la temperatura es por lo menos de 21°C. Varios especímenes introducidos en África Occidental han mostrado una germinación óptima a temperaturas que varían entre 16°C y 35°C. Algunos genotipos resisten relativamente bien temperaturas bajas, como es el caso con la introducción de diferentes especies de este cultivo en Rusia en zonas frías, con óptimos resultados.

En cuanto a humedad para su desarrollo, las especies de amaranto requieren nivel menor que, por ejemplo, el maíz. En la actualidad se cultiva el amaranto bajo diferentes niveles de precipitación, siendo la más aceptable una precipitación anual que oscila entre 400 y 1000 mm por año (Tejerina y Arenas, 2001).

#### **2.1.5. Características del grano**

Las semillas de amaranto son muy pequeñas, 1000 – 3000 semillas por gramo es lo común. Son de forma circular vista por encima y lenticular vista de costado, y de aproximadamente 1 a 1.5mm de diámetro y 0.5 mm de espesor, de diversos colores: blanco lechoso; blanco amarillento; dorada; rosada; roja y negra, la mayor parte de la semilla está ocupada por el embrión que se arrolla en círculo (Aparcana, 1999).

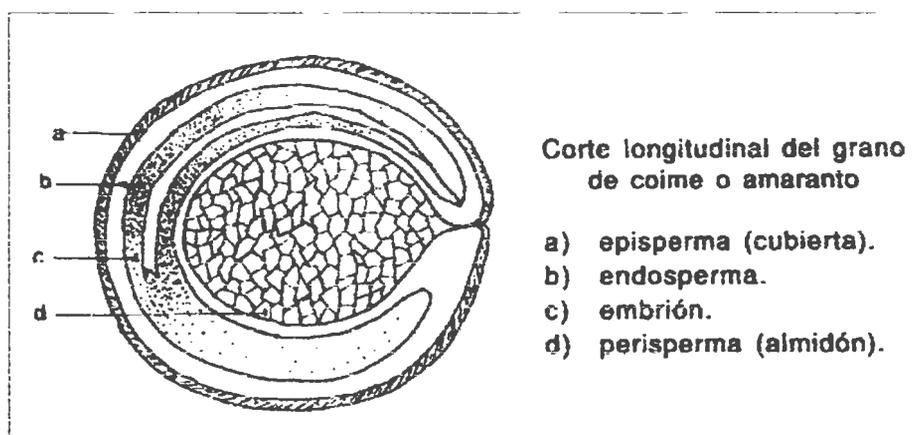
Actualmente, los estudios químicos y bromatológicos, realizados en la semilla de esta especie muestran que tiene un alto valor nutricional. Sus granos o semillas, son muy pequeñas, de sabor agradable algo parecido a la nuez y son de forma circular y de color variado.

En la Figura 2 se observa las principales partes del grano: episperma, que viene a ser la cubierta seminal constituida por una capa de células muy finas, el endosperma que viene a ser la segunda capa, el embrión formado por los cotiledones es la parte más rica en proteínas y una interna llamada perisperma rica en almidón (Aparcana, 1999).

El embrión o germen en comparación a otros cereales es bastante grande y puede obtenerse hasta un 30% de proteína y un 20% de aceite vegetal (Kietz, 1992).

El germen y el salvado constituyen el 26% de la semilla: la harina el 74%. Al molerse el grano, las proteínas, grasa cruda, minerales y vitaminas están concentradas significativamente en la fracción germen-salvado (Quinde, 1995).

**Figura 2. Corte longitudinal del grano de amaranto**



Fuente: Tejerina & Arenas (2001)

### 2.1.6. Composición química de la kiwicha

Sumar (1981) citado por Castro (1987) da a conocer resultados de algunos estudios bromatológicos (base seca) en semillas que se puede apreciar en el Cuadro 4:

**Cuadro 4. Composición química de semillas de kiwicha en base seca**

Componentes	(%)
Proteínas	13.4 - 19.27
Grasa	4.4 - 6.98
Fibra cruda	2.0 - 3.31
Extracto no nitrogenado	61.0 - 76.28
Colorante betalaina	12.0 - 17.00

Fuente: Castro (1987)

En el Cuadro 5 se puede comparar la composición proximal de la kiwicha y otros cereales y granos andinos, en el que se observa que la kiwicha tiene mayor porcentaje de proteína y de cenizas.

**Cuadro 5. Composición próxima de los cereales y granos andinos (g/100 g b.s.)**

Cereal	Proteína	Grasa	Fibra cruda	Cenizas
Cebada <sup>1</sup>	11.8	1.8	5.3	3.1
Avena <sup>1</sup>	11.6	5.2	10.4	2.9
Centeno <sup>1</sup>	13.4	1.8	2.6	2.0
Arroz <sup>1</sup>	9.1	2.2	10.2	7.2
Maíz <sup>1</sup>	11.1	4.9	2.1	1.7
Sorgo <sup>1</sup>	12.4	3.6	2.7	1.7
Quinua <sup>1</sup>	14.4	6.0	4.0	2.9
Kañiwa <sup>1</sup>	18.8	7.6	6.1	4.1
Kiwicha: <sup>1</sup>	14.5	6.4	5.0	2.6
- Albiflorus (Semilla blanca) <sup>2</sup>	16.0	4.8	2.8	4.3
- Atropurpureus (Semilla roja) <sup>2</sup>	14.7	7.3	4.2	4.0

<sup>1</sup>Repo-Carrasco (1998)

<sup>2</sup>Sumar (1981) citado por Castro (1987)

National Academy of Sciences (1975) citado por Castro (1987) manifiesta en su publicación que existen tres especies promisorias de *Amaranthus* tan largamente olvidadas candidatas para el incremento de proteínas en los países en desarrollo; éstas son: *Amaranthus caudatus*, *A. cruentus* y *A. hypocondriacus*. Las semillas de las tres especies son altas en proteínas, así las semillas de *A. hypocondriacus* contiene aproximadamente 15% de proteínas y 63% de almidón.

El Cuadro 6 indica la composición química del *Amaranthus caudatus*, determinada por Málaga *et al.*, (1986) citado por Aparcana (1999), comparada con la composición del *Amaranthus cruentus* y *Amaranthus hypocondriacus* reportados por Sánchez (1983) citado por Aparcana (1999).

**Cuadro 6. Composición química promedio del *Amaranthus caudatus* en comparación con otras especies\***

Componentes	<i>A. caudatus</i> (a)	<i>A. cruentus</i> (b)	<i>A. hypocondriacus</i> (c)
Humedad	10.8	11.2	10.8
Proteína**	14.3	13.1	14.7
Grasa cruda	7.0	6.4	6.9
Fibra cruda	7.5	7.2	6.1
Ceniza	2.8	3.4	3.6
Carbohidratos	68.4	58.7	57.9

\* en base húmeda y expresado en porcentaje

\*\* Nx 6.25

(a) valores reportados por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999).

(b), (c) valores reportados por Sánchez-Marroquín (1983) citado por Aparcana (1999).

### **2.1.6.1. Proteína de la kiwicha**

El contenido promedio de proteína de la kiwicha es de 14.3%. La proteína del amaranto se encuentra principalmente en el embrión (65%), a diferencia de otros cereales como maíz, arroz y soya que presenta el 80% de la proteína en el endospermo; su proteína es especialmente benéfica para grupos como infantes y mujeres en cinta, es de fácil digestión (Gómez, 1998 citado por Aparcana, 1999).

#### **2.1.6.1.1. Valor biológico de la proteína**

El contenido de proteína varía de 14 a 15%, su contenido de lisina es alto, mayor que el de los cereales convencionales. El valor biológico (75%) es superior al de la leche, soya, trigo y maíz (Nacional Research Council, 1984 citado por Macedo, 1990). De los azúcares, la sacarosa es superior a las presentes en el trigo, cebada y mijo (Bressani, 1984 citado por Macedo, 1990).

La kiwicha es una planta de la cual se consumen las hojas como verdura, mientras que las semillas se utilizan como cereal. El grano del kiwicha es de gran valor nutritivo debido a su alto contenido de proteína y su balance de aminoácidos perfecto (Satyanarayana, 1990).

Numerosos estudios han demostrado el alto valor nutritivo de la kiwicha, tanto en cantidad como en calidad. El contenido alto de proteínas se asemeja al de la leche, es superior al de las Gramineae (Poaceae) convencionales como el maíz, trigo, avena y otros. Contiene un aminoácido esencial en cantidades altas que es la lisina, el cual es importante para la formación de los huesos y de la sangre (Castro, 1986 citado por Apaza, 1996).

De esta manera, la kiwicha se constituye en una importante fuente de alimentación para la población, con un elevado valor nutritivo, con contenidos importantes de proteína, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales.

A diferencia de la quinua la semilla de kiwicha carece de saponina amarga posee un valor nutritivo superior al del trigo y maíz; salvo en el caso del aminoácido esencial: leucina, cuya carencia es total. Sin embargo es muy rico en proteínas, minerales, vitaminas y ácidos grasos (Vásquez y Alza, 1998).

El grano de kiwicha tiene un contenido de proteína elevado con relaciones a algunos cereales. La proteína del grano posee un elevado tenor del aminoácido lisina un 5%, el cual generalmente se encuentra en escasa cantidad en los vegetales, además contiene un 4.4% de aminoácidos azufrados, los cuales son aminoácidos limitantes en otros granos. Además que la proteína de esta especie es más digerible (ICTA, 1990).

Los aminoácidos limitantes del *A. caudatus* son la leucina y la treonina. Pero esto no sería una seria limitación porque la leucina se encuentra en exceso en los cereales. El score químico es superior al de los cereales comúnmente empleados. Su eficiencia proteica es de 2.3 siendo el 92% en relación con el 2.5 de la caseína (Sanchez, 1980 y Salcedo, 1986 citado por Macedo, 1990).

La calidad y cantidad de aminoácidos esenciales contenidos en los amarantos peruanos, comparados con los amarantos cultivados en los Estados Unidos, son más significativos con la particularidad que aún es posible cultivar variedades que incluso proporcionen mejor cantidad de nutrientes.

La kiwicha tiene un perfil superior de aminoácidos que el organismo no puede sintetizar, la lisina y metionina, de los que carecen los otros cereales. La importancia de la lisina se debe a que tiene funciones claves en el desarrollo de las células del

cerebro humano y en el crecimiento, también se asocia la lisina con el desarrollo de la inteligencia y la memoria y el aprendizaje. Una dieta baja de este aminoácido no permite un crecimiento normal del organismo de los niños. En el caso de la metionina, es más consumido y es más importante como fuente principal de azufre y necesario para el metabolismo de la insulina (Giga, 1998). Estos aminoácidos se encuentran en cantidades superiores en la kiwicha con relación a otros cereales como se observa en el siguiente Cuadro 7.

**Cuadro 7. Aminoácidos esenciales de *Amaranthus caudatus* Linneo en comparación con otros cereales (gramos de AA/16 gramos de N.)**

{PRIVATE}AMINOÁCIDO	KIWICHA	TRIGO	MAÍZ	SORGO	ARROZ	AVENA
Cistina	2.3	2.0	1.3	1.7	1.3	2.0
Isoleucina	3.6	4.0	4.6	5.4	4.5	4.8
Lisina	5.1	2.6	2.9	2.7	3.8	3.4
Leucina	5.3	6.3	13.0	16.1	8.2	7.0
Metionina	22	1.4	1.9	1.7	1.7	1.4
Treonina	3.4	2.7	4.0	3.6	3.7	3.1
Triptófano	0.9	1.2	0.6	1.1	1.0	1.2

Fuente: Bressani & Elias (1961) citado por Guillen (1990).

El Cuadro 8 muestra los aminogramas de varias especies del género *Amaranthus*, se puede apreciar que el *Amaranthus caudatus* tiene un adecuado balance, comparado con el patrón FAO presentando una ligera deficiencia en leucina, pero mayores tenores de lisina y aminoácidos azufrados (metionina y cistina), que como se sabe se encuentran escasos en la mayoría de cereales y leguminosas, de allí su gran

importancia como alimento portador de dichos aminoácidos en mezclas alimenticias (Málaga *et al.*, 1986 citado por Aparcana, 1999).

**Cuadro 8: Contenido de aminoácidos y cómputo químico de la proteína del Amaranto (mg aa/g de proteína)**

Aminoácidos	Patrón (a)	A. Caudatus (b)	A. Hypocondriacus	A. Cruentus
Isoleucina	28	52	39	36
Leucina	66	46	57	51
Lisina	58	67	55	51
Met-Cis	25	35	47	40
Fenil-Tir	63	63	73	60
Treonina	34	51	36	34
Triptófano	11	11	—	—
Valina	35	45	45	42
Histidina	19	25	25	24
Cómputo químico	100	70	86	77

(a) FAO/OMS (1985), (b) Collazos (1975)

Fuente: Mujica (1997) citado por Aparcana (1999)

#### 2.1.6.1.2. Cómputo de aminoácidos

Las proteínas de los granos andinos difieren de la contenida en los cereales no sólo en cantidad, sino también en calidad

Al revisar el contenido de aminoácidos de las proteínas de la quinua, qañiwa y amaranto, considerando sólo los aminoácidos que con mayor frecuencia son limitantes en las dietas mixtas: lisina, azufrados (metionina+cistina), treonina y

triptófano, es posible apreciar que, a excepción del triptófano, su contenido de aminoácidos en general es superior al de las proteínas del trigo (Cuadro 9).

**Cuadro 9. Contenido de lisina, metionina y triptófano en granos andinos y en trigo (mg de aminoácidos/g de proteínas)**

Aminoácidos	Quinoa (a)	Qañiwa (a)	Amaranto (a)	Trigo (b)
Lisina	68	59	67	29
Metionina	21	16	23	15
Treonina	45	47	51	29
Triptófano	13	8	11	11

Fuente: Tapia *et al.* (2005)

(a) Valores promedios de las variedades de la tabla de composición de alimentos peruanos

(b) FAO, 1972. Contenido en aminoácidos de los alimentos y datos biológicos sobre las proteínas.

Esto es importante, debido a que la calidad de la proteína de un alimento depende de su contenido en aminoácidos esenciales. La FAO ha señalado que una proteína es biológicamente completa cuando contiene todos los aminoácidos esenciales en una cantidad igual o superior a la establecida para cada aminoácido en una proteína de referencia o patrón. Tradicionalmente, se utilizaba como patrón de aminoácidos las proteínas de la leche o del huevo. Actualmente el patrón de aminoácidos recomendado para evaluar la calidad biológica de las proteínas para todas las edades, excepto los menores de un año, se basa en los requerimientos de aminoácidos del preescolar (FAO/OMS/UNU, 1985; UNU/Fundación CAVENDES, 1988 citado por Tapia *et al.*, 2005).

Las proteínas que poseen uno o más aminoácidos limitantes, es decir que se encuentran en menor proporción que la establecida en la proteína de referencia o patrón, se consideran biológicamente incompletas, debido a que no se utilizan totalmente. La relación del aminoácido limitante que se encuentra en menor proporción con respecto al mismo aminoácido en la proteína de referencia, se denomina cómputo aminoacídico (Comp. Amin.).

El Comp. Amin. se expresa en porcentaje o como fracción y se calcula como sigue:

$$\text{Comp. Amin.} = \frac{\text{mg de aminoácidos en 1 g de proteína del alimento estudiado}}{\text{mg de aminoácidos en 1 g de proteína de referencia}} \times 100$$

El amaranto tiene como primer limitante a la leucina, con un cómputo aminoacídico de 70%. La calidad de las proteínas de los granos andinos mejora al mezclarlas con leguminosas, debido a que sus aminoácidos limitantes son distintos. Las proteínas de los granos andinos por su alto contenido en lisina comparado con otros cereales permite una excelente complementación con las del maíz, arroz y trigo. También se pueden adicionar pequeñas cantidades de proteínas de origen animal, como huevo o leche, que no tienen aminoácidos limitantes, para mejorar la calidad de las proteínas en una dieta mixta. Este proceso se llama complementación aminoacídica.

Otro método de la evaluación biológica de la proteína es la Relación de Eficiencia de la Proteína (REP o PER), que se basa en el aumento de peso por gramo de proteína ingerida en ratas de 21 -23 días, alimentadas con una dieta al 10% de la proteína en estudio durante 28 días. El PER suele usarse como norma para la elaboración de productos que contienen proteínas. Como estándar de referencia se usa una dieta de caseína con un PER de 2.5. Según Quinde (1995), el A. cruentus reventado (popping) tiene un PER de 1.73, que no es significativamente más alto que el crudo. Y además no tienen ningún efecto en la composición de aminoácidos.

Los valores de PER, NPR y NPU del amaranto crudo son muy altos con respecto a los de la caseína. El valor biológico de la proteína de amaranto crudo es mayor que el del maíz, trigo, soya y leche de vaca y su proporción de aminoácidos esenciales se parece más a la distribución ideal que la de ninguna otra proteína de grano (Mazza, 2000).

El valor nutritivo de la proteína de la kiwicha es muy bueno, presenta un valor biológico de 75, acercándose mucho más que cualquier otra proteína de origen vegetal al equilibrio perfecto de los aminoácidos esenciales. Los radios de eficiencia de la proteína (REP) están dentro de un rango comprendido entre 1.5 a 2.3 este elevado valor biológico del grano de esta especie, es el más alto entre los cereales (Kietz, 1992).

En la evaluación de la calidad proteica mediante la relación de eficiencia proteica (PER) se observa que el PER del amaranto autoclavado fue de 2.3, al igual que el del amaranto crudo, valores que representan el 92% con respecto al 2.5 de la caseína. Al no existir diferencias entre los dos tratamientos, se podría inferir la ausencia de factores antinutricionales termolábiles, no obstante la existencia de publicaciones sobre la presencia de dichos factores en otras especies de *Amaranthus*. Por otro lado, el PER del amaranto tostado-reventado alcanzó un valor de 1.75 (70% de la caseína) y podría explicarse por la pérdida de lisina y otros aminoácidos esenciales al ser sometido al calor seco (Tapia *et al.*, 2005)

#### **2.1.6.1.3. Digestibilidad proteica**

Según menciona Tapia *et al.* (2005), otro factor de la corrección de la calidad biológica de las proteínas es la digestibilidad o proporción del nitrógeno (N) ingerido que es absorbido. La digestibilidad verdadera (que considera la pérdida fecal endógena), se calcula como sigue:

$$Dv = \frac{N \text{ ingerido} - (N \text{ fecal} - N \text{ fecal dieta aprotéica})}{N \text{ ingerido}} \times 100$$

La digestibilidad de las proteínas del huevo, leche y carne es cercana al 100%. Sin embargo, los cereales, leguminosas y granos andinos, por su mayor contenido de fibra presentan una digestibilidad menor. Se estima que la digestibilidad de los granos andinos es de aproximadamente 80%. En el Cuadro 10 se muestra la Digestibilidad de algunos alimentos.

**Cuadro 10. Digestibilidad de algunos alimentos**

Alimento	Digestibilidad
Huevos	97%
Carnes, pollo, pescado	85 – 100%
Leche	81%
Trigo (pan)	91 -95%
Maiz	90%
Semilla de soja	90%
Legumbres	73 – 85%

Fuente: Moreno (2000)

Las necesidades de proteínas de los individuos deberán corregirse de acuerdo al cómputo aminoacídico y la digestibilidad de la dieta que consuman. En el Cuadro 11 se presenta un ejemplo del método de cálculo para ajustar las recomendaciones de proteínas de acuerdo a una dieta mixta con un cómputo de aminoácidos de 90% y una digestibilidad de 80%.

De acuerdo al Cuadro 11, un preescolar que consume una dieta mixta común en América Latina, con proteínas cuya digestibilidad verdadera es de 80% y una calidad

del 90% en relación al patrón de referencia de aminoácidos esenciales, debería tener una ingesta diaria de 1.52 g por Kg de peso por día.

**Cuadro 11. Ejemplo de cálculo de la ingesta recomendada de proteínas de una dieta mixta latinoamericana**

Cómputo de aminoácidos = 90%
Digestibilidad = 80%
<b>Preescolares</b>
Ingesta recomendada de proteínas de referencia = 1.10 g / Kg / día
Ingesta recomendada de proteínas dieta mixta = $1.10 \times \frac{100}{90} \times \frac{100}{80} = 1.52 \text{ g / Kg / día}$
<b>Escolares</b>
Ingesta recomendada de proteínas de referencia = 0.99 g / Kg / día
Ingesta recomendada de proteínas dieta mixta = $0.99 \times \frac{100}{90} \times \frac{100}{80} = 1.37 \text{ g / Kg / día}$
<b>Adultos</b>
Ingesta recomendada de proteínas de referencia = 0.75 g / Kg / día
Ingesta recomendada de proteínas dieta mixta = $0.75 \times \frac{100}{90} \times \frac{100}{80} = 1.00 \text{ g / Kg / día}$

Fuente: Adaptado de FAO/OMS/UNU (1985) citado por Tapia *et al.* (2005)

Los granos de kiwicha también son de fácil digestión y demandan del organismo un pequeño gasto de energía para ser asimilados (Giga, 1998).

La digestibilidad del amaranto con un 80%, indica que tiene una muy buena digestibilidad que se aproxima a la caseína de la leche, que es tomado como patrón de referencia para la digestibilidad de proteína con un 88% (Kietz, 1992).

La digestibilidad de la kiwicha es de 65% y 74% para semilla cruda y tostada o reventada respectivamente siendo su aporte calórico de 360 (Sanchez, 1980 y Salcedo, 1986 citado por Macedo, 1990).

Según Quinde (1995), el *A. cruentus* reventado (popping) tiene una digestibilidad de 77% que no es significativamente más alto que el crudo.

Sin embargo Huayapa (1990) menciona una digestibilidad total de la kiwicha cocida cerca de 90%. Además Mazza (2000) afirma que la digestibilidad proteica es bastante similar a los de la caseína.

Un aspecto muy importante en la evaluación de la calidad nutricional de especies vegetales lo constituye el efecto del procesamiento térmico. En general los tratamientos térmicos severos afectan la calidad nutricional de la proteína, pero los calentamientos controlados incrementan el valor nutritivo. Ello se debe a la inactivación de factores antifisiológicos, o bien al incremento en la disponibilidad de aminoácidos.

Las investigaciones emprendidas para evaluar el efecto del tratamiento térmico en la kiwicha han determinado que los granos no tratados son de baja calidad comparada con los controles de caseína utilizados. No obstante, el valor nutritivo mejora notablemente con tratamientos térmicos controlados. Por el contrario, los tratamientos térmicos severos tal como el tostado de las semillas de kiwicha, disminuye notoriamente su calidad (Bressani, 1984 citado por Imeri *et al.*, 1987). Sin embargo Sánchez-Marroquín *et al.* (1985) señala que el tratamiento térmico (tostado,

reventado y cocción) de las semillas de amarantos provenientes de México afectó el contenido de proteína y lisina, al igual de lo que ocurre en cereales y leguminosas, pero el tostado en particular, mejora sus características organolépticas sin alterar su digestibilidad ni el PER.

Imeri *et al.* (1987), sometieron a cocción en agua en el autoclave a 15 lb de presión por 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 minutos. Una vez cocidos, las muestras fueron deshidratadas con aire caliente a 60 °C y convertidas en harinas. A estas muestras se analizaron su digestibilidad verdadera *in vivo*, concluyendo que no hubo cambios importantes en cuanto a digestibilidad verdadera de la proteína en relación al tiempo de cocción. Siendo el rango entre 79 a 82%. 82% a 0 minutos de cocción, 79% a 10 minutos de cocción, 81% a 20 minutos de cocción, 80% a 30 minutos de cocción, 81% a 40 minutos de cocción, 79% a 50 y 60 minutos de cocción.

En otro estudio realizado por Correa *et al.* (1986), determinaron la digestibilidad *in vitro* de la proteína de semillas de *amaranthus* en crudo provenientes de Brasil, Puerto Rico y California que resultó ser de 61 a 76%.

#### **2.1.6.2. Lípidos de la kiwicha**

El porcentaje de grasa en la semilla del amaranto fluctúa entre 5% y 8%, cerca del 76% del aceite de amaranto es insaturado, presenta altos niveles de vitamina E (alfa, gamma y delta tocotrienoles T3), los que disminuyen la producción de colesterol en pruebas aplicadas en animales de laboratorio, también contiene alta concentración de escualeno (6%-7%), el cual es altamente apreciado y es extraído del hígado de tiburón, usándolo en la fabricación de cosméticos. Los principales ácidos grasos presentes en el aceite son el oleico y el linoleico, con 29.3% y 44% respectivamente seguido por el palmítico con 18.4% (Cuadro 12) (Aparcana, 1999). Sin embargo, el bajo contenido de grasa cruda de la semilla limitaría su uso industrial.

**Cuadro 12. Composición del aceite de la semilla de amaranto.**

Acido graso	%
Oleico (C18:1)	29.3
Linoleico (C18:2)	44.0
Palmítico (C16:0)	18.4
Linolénico (C18:3)	1.3
Mirístico (C14:0)	0.2
Miristoléico (14:1)	0.1
Miristolénico	0.1
Palmitoléico (16:1)	0.8
Palmitolénico	0.9
Esteárico (C18:0)	3.8
No identificados	1.2

Fuente: Casillas (1986) citado por Aparcana (1999)

### 2.1.6.3. Carbohidratos de la kiwicha

Según Bressani (1984) citado por Macedo (1990) su composición promedio de azúcares totales es de 2 - 3%. El almidón es el más abundante carbohidrato componente de la semilla de amaranto, aproximadamente el 62% del peso total del grano. Quinde (1995) indica que el almidón del *Amaranthus hypocondriacus* es amilopectina en su totalidad y el almidón del *amaranthus caudatus* no es aglutinable. Los gránulos de almidón aislados de las semillas del *Amaranthus hypocondriacus* son pequeños (1-3  $\mu\text{m}$  de diámetro) y la temperatura de gelatinización de inicio es de 62°C y final de 68°C (Becker *et al.*, 1981 citado por Aparcana, 1999).

#### 2.1.6.4. Los minerales de la kiwicha

El grano de kiwicha posee varias ventajas sobre los cereales. Como el alto contenido de proteína, grasa, calorías y aminoácidos. Estas características influyen en la buena calidad de la proteína de la semilla de kiwicha bien procesada. Sin embargo, el grano de kiwicha ofrece otras ventajas nutricionales que frecuentemente no se discuten y que no han recibido mucha atención en investigación. Entre estas ventajas, el contenido de minerales merece mayor estudio, en particular sobre aspectos nutricionales asociados a calcio, hierro y fósforo en la semilla. Existen varios informes que indican que el contenido de calcio varía de 217-303 mg/g, el de hierro, de 21-104 mg/g, y el de fósforo de 556-600 mg/g. Los cereales contienen cantidades significativamente menores, en particular de calcio y de hierro. (Bressani, 1992).

En el Centro Regional de Investigación Agropecuaria La Molina en 1964 estudiaron el grado de utilización de la harina de kiwicha (*Amaranthus caudatus* Linneo) en la elaboración de panes. Luego se realizaron análisis químico-bromatológicos de la harina en la cual se encontró un contenido proteico de 12.48%, grasa: 8.82% y de sales minerales del orden: 3.25%. El análisis químico de los panes elaborados, señaló que conforme aumenta la proporción de harina de kiwicha en la mezcla, también aumenta el porcentaje de grasas, minerales y fibra.

La kiwicha es un excelente alimento, de un alto valor nutritivo, debido a la cantidad y calidad de proteína, de lípidos, fibra y minerales que posee, que es superior a la de los cereales.

El contenido de otros minerales en el grano de esta especie también ha sido registrado con la siguiente variabilidad en el Cuadro 13:

**Cuadro 13. Composición de los minerales que contiene el grano de *Amaranthus caudatus* Linneo.**

{PRIVATE}MINERALES DE LA KIWICHA	CONTENIDO mg/g
Calcio	217.0 - 303.0
Fósforo	556.0 - 600.0
Potasio	525.0 - 536.0
Magnesio	319.0 - 344.0
Hierro	21.0 - 104.0
Sodio	22.0 - 26.0
Zinc	3.4 - 3.2
Manganeso	2.9 - 5.2
Cobre	0.9 - 4.1

Fuente: Bressani (1992).

#### 2.1.6.5. Vitaminas de la kiwicha

Las vitaminas están presentes en cantidades similares a otros granos, riboflavina (0.19 - 0.23 mg/100g), niacina (1.17 - 1.45 mg/100g), tiamina (0.07-0.10 mg/100g) y ácido ascórbico (3.36-7.24 mg/100g) (Becker *et al.*, 1981 citado por Quinde, 1995).

Las concentraciones de niacina y tiamina del amaranto y la quinua son menores que las de los otros granos de cereales, mientras que las concentraciones de riboflavina y ácido ascórbico son mayores. Por ejemplo, 100 g de semilla de amaranto proporciona alrededor del 12% de la cantidad de ácido ascórbico (vitamina C) que debe consumir un adulto para tener una salud óptima y el 22% de las necesidades de vitamina C de un niño. La vitamina C es un antioxidante y tiene al menos dos funciones protectoras:

1. Regenerar algunas enzimas mediante la reducción de los grupos prostéticos oxidados, y
2. Neutralizar a compuestos oxidantes y radicales libres.

Los radicales libres producen importantes daños en los sistemas biológicos y se piensa que están implicados en los efectos patológicos de más de 70 enfermedades, incluyendo la arteriosclerosis, cáncer, diabetes y cataratas (Mazza, 2000).

En el Cuadro 14 se muestra el contenido de vitaminas de las semillas de amaranto y quinua.

**Cuadro 14. Contenido de vitaminas de las semillas de amaranto y quinua.**

Vitaminas (mg/100 g)	Amaranto	Quinua	Patrón de referencia FAO/OMS/UNU	
			Adulto	niños
Ácido ascórbico	3.0-7.1	3.0-4.9	60	30-35
$\alpha$ -Tocoferol	1.57	2.0-5.4	9	3-4
Biotina	43-51	ND	0.3-1.0	ND
Ácido fólico	42-44	ND	0.18-0.20	0.03
Niacina	1.0-1.5	1.5	15-19	5-6
Retinol	ND	15	0.8-1.0	0.38
Riboflavina	0.19-0.32	0.39	1.3-1.7	0.4-0.5
Tiamina	0.10-0.14	0.31	1.1-1.5	0.3-0.4

ND: no disponible

Fuente: Bressani (1994) y (Padh) 1994 citados por Mazza (2000)

Es interesante constatar que 100 g de amaranto aportan, por término medio, el 17% de la ingesta diaria recomendada de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) para adultos, y el 45%

1. Regenerar algunas enzimas mediante la reducción de los grupos prostéticos oxidados,y
2. Neutralizar a compuestos oxidantes y radicales libres.

Los radicales libres producen importantes daños en los sistemas biológicos y se piensa que están implicados en los efectos patológicos de más de 70 enfermedades, incluyendo la arteriosclerosis, cáncer, diabetes y cataratas (Mazza, 2000).

En el Cuadro 14 se muestra el contenido de vitaminas de las semillas de amaranto y quinua.

**Cuadro 14. Contenido de vitaminas de las semillas de amaranto y quinua.**

Vitaminas (mg/100 g)	Amaranto	Quinua	Patrón de referencia FAO/OMS/UNU	
			Adulto	niños
Ácido ascórbico	3.0-7.1	3.0-4.9	60	30-35
$\alpha$ - Tocoferol	1.57	2.0-5.4	9	3-4
Biotina	43-51	ND	0.3-1.0	ND
Ácido fólico	42-44	ND	0.18-0.20	0.03
Niacina	1.0-1.5	1.5	15-19	5-6
Retinol	ND	15	0.8-1.0	0.38
Riboflavina	0.19-0.32	0.39	1.3-1.7	0.4-0.5
Tiamina	0.10-0.14	0.31	1.1-1.5	0.3-0.4

ND: no disponible

Fuente: Bressani (1994) y (Padh) 1994 citados por Mazza (2000)

Es interesante constatar que 100 g de amaranto aportan, por termino medio, el 17% de la ingesta diaria recomendada de  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) para adultos, y el 45%

de las necesidades totales de los niños. La vitamina E es un antioxidante muy eficaz que cede fácilmente el átomo de hidrógeno del grupo hidroxilo de su estructura anular a radicales libres, neutralizándolos. Se ha comprobado *in vitro* que algunos tocotrienoles son antioxidantes particularmente eficaces, aunque la actividad biológica más alta es la del  $\alpha$ -tocoferol. Las semillas de amaranto son también una buena fuente de  $\beta$ -tocotrienol (0.59 – 1.15 mg/100 g) y de  $\gamma$ -tocotrienol (0.10 – 0.87 mg/100 g). También se ha comprobado que los tocotrienoles tienen propiedades hipocolesterolémicas; y además una patente reciente declara que, además de los 8 isómeros de vitamina E, el amaranto contiene nuevos y potentes inhibidores de colesterol: el desmetil-tocotrienol y didesmetil-tocotrienol (Mazza, 2000).

Una característica excepcional de las semillas de amaranto es su contenido de biotina y ácido fólico. El contenido de biotina oscila entre 43 y 51 mg/100 g de semilla y el de ácido fólico oscila entre 42 y 44 mg/100 g de semilla; por lo que el amaranto puede aportar fácilmente las cantidades recomendadas actualmente tanto de biotina como de ácido fólico. La deficiencia de biotina, causada por una dieta rica en clara de huevo cruda, produce náuseas, descamación y anorexia, aumentando el contenido de colesterol en sangre y disminuyendo el de hemoglobina. La deficiencia de biotina en niños se puede corregir mediante la administración de 10 mg/día de biotina, dosis que se alcanza con aproximadamente 25 g de amaranto. No se ha detectado toxicidad de la biotina o del ácido fólico a dosis en exceso de las recomendadas (Mazza, 2000).

Según Mazza (2000), una porción de 100 g de amaranto puede aportar hasta el 71% de la ingesta diaria recomendada para niños de riboflavina (Cuadro 14). Además, cuando el grano de amaranto se hace pasar por una perladora, se obtienen dos fracciones de harina: harina de embrión y cáscara y harina de perispermo. El contenido de riboflavina de la harina de embrión y cáscara es de 0.43 mg/100 g, que es suficiente para cubrir el 100% de la ingesta diaria recomendada para infantes y

aproximadamente el 31% de la ingesta diaria recomendada (IDR) para adultos. Además, el contenido de tiamina de la harina de embrión y cáscara puede llegar a los 2.88 mg/100 g, cantidad que satisface por completo las necesidades de tiamina (Cuadro 14).

#### **2.1.6.6. Componentes menores de la kiwicha**

Las semillas de amaranto no contienen saponinas ni compuestos fenólicos. Los oxalatos y nitratos presentes no se encuentran en proporciones significativas y no presentan un serio problema puesto que pueden eliminarse con un lavado (Sanchez, 1983 citado por Aparcana, 1999).

Sin embargo, Afolabi *et al.* (1981) citado por Macedo (1990) dice que el *Amaranthus hypocondriacus* y *amaranthus caudatus* contienen polifenoles (taninos) en concentraciones de 0.15-0.25%, siendo la concentración de 0.25% la que probablemente provocó la pérdida de peso en las ratas dando un PER negativo (-2.4). Además los granos de amaranto contienen otros antinutrientes como saponinas, taninos e inhibidores de tripsina; en tales niveles similares a otras legumbres y otros granos (National Research Council, 1984 citado por Macedo, 1990).

Diversos estudios sugieren que algunos constituyentes del amaranto y la quinua pueden tener efectos positivos o negativos sobre la nutrición o la salud. En el Cuadro 15 se recogen los componentes menores de amaranto y quinua más conocidos. La concentración de ácido fítico en amaranto (0.34-0.61%) es mayor que la del arroz (0.10-0.14%), pero menor que la del maíz y trigo. Además la concentración de polifenoles en amaranto (entre 2.0 y 4.0 mg/g) es también mayor que la concentración de polifenoles de la soya (0.1-3.0 mg/g) (Mazza, 2000).

**Cuadro 15. Componentes menores del amaranto y la quinua**

Componente	Amaranto	Quinua
Inhibidores de la quimotripsina (U/g)	3000-4000	ND
Nitratos (mg/100 g)	29-62	ND
Ácido oxálico (mg/100 g)	0-16	ND
Ácido fitico (%)	0.34-0.61	ND
Polifenoles (mg/g)	2.0-4.0	0.2
Saponinas (g/100g)	ND	0.14-0.76
Inhibidores de la tripsina (UIT/g)	300-5150	1.36-5.04
Amarantín (mg/g)	1.6-1.7	---
Amarantina	Trazas	---
Fibra alimentaria (g/100g)	7.11-17.5	13.3-13.4

ND= no disponible

Fuente: Mazza (2000)

Según Klimczak *et al.* (2002), el ácido cafeico fue el principal componente de los ácidos fenólicos en *Amaranthus caudatus* (52%) como se puede ver en el Cuadro 16.

El contenido de ácidos fenólicos libres en las muestras analizadas cubrió el 27% del total de compuestos fenólicos en *Amaranthus caudatus*. Esto quiere decir que el 73% fue flavonoides que se podrían haber identificado para ver cuales predominaban. Por consiguiente, la actividad antioxidante observada de las semillas de amaranto puede ser a cuenta de la aparición de los ácidos fenólicos libres (Klimczak *et al.*, 2002)

**Cuadro 16. Contenido de ácidos fenólicos libres en semilla de amaranto obtenido por aplicación de extracción fase sólida y método HPLC fase inversa**

Acidos Fenólicos	A. paniculatus	%	A. caudatus	%
Ac. gálico	40.64	13.75	---	---
Ac. protocatequico	100.92	34.15	4.65	4.35
Ac. p-hidroxibenzoico	15.62	5.29	20.89	19.55
Ac. cafeico	51.67	17.49	55.79	52.21
Ac. p-cumárico	43.57	14.74	5.20	4.87
Ac. ferúlico	40.05	13.55	18.41	17.23
Ac. sinápico	0.48	0.16	---	
Ac. salicílico	2.65	0.90	1.92	1.80
Total	295.5	100	106.86	100

Fuente: Klimczak *et al.* (2002)

Recientemente se han encontrado cuatro saponinas en *Amaranthus hypocondriacus*. Sin embargo, hasta ahora ningún estudio ha determinado si existe relación entre las saponinas y los factores antinutritivos sensibles al calor húmedo presentes en algunos tipos de amaranto. La concentración de inhibidores de la tripsina (IT) es de entre 300 y 5150 unidades IT/g; y la de inhibidores de quimotripsina de entre 3000 y 4000 unidades /g.

Se han intentado determinar los efectos farmacéuticos de los componentes menores sobre varias enfermedades. Por ejemplo, se ha comprobado que los compuestos fenólicos, especialmente los flavonoides, presentan diversos efectos biológicos, incluyendo efectos antiinflamatorios, antibacterianos, antiviricos, antialérgicos y vasodilatadores. Además los flavonoides inhiben la peroxidación lipídica, la

agregación plaquetaria y la actividad de enzimas como la lipoxigenasa. Las legumbres y el amaranto contienen cantidades relativamente altas de polifenoles, un tipo de compuestos muy abundantes en el reino vegetal (Mazza ,2000).

Las saponinas se consideran generalmente factores antinutritivos, pero estudios recientes han indicado que algunas saponinas tienen propiedades hipocolesterolémicas, estimulantes del sistema inmunológico y anticancerígenos. Entre los modos de acción que se han propuesto para la actividad anticancerígeno de las saponinas se incluyen el efecto antioxidante, el carácter citotóxico para las células cancerígenas, la modulación inmunológica y la regulación de la proliferación celular (Mazza ,2000).

El amaranto contiene altas concentraciones de inhibidores de la tripsina y de la quimotripsina por lo que es necesario investigar más a fondo las posibles aplicaciones medicinales de esta planta. En estudios sobre inhibidor de la tripsina y quimotripsina Bowman-Birk (IBB) se ha comprobado que la ingestión de harina de soya cruda o de inhibidores de la tripsina de soya puede producir un agrandamiento del páncreas en ratones y en cobayas jóvenes, pero no en cobayas adultas, perros, terneros o monos. Presumiblemente, sin embargo, no producen efecto alguno en humanos. La publicación del estudio sobre el papel del IBB en la supresión o prevención de la carcinogénesis en ratones *in vivo* impulsó una serie de experimentos que llevaron a la clonación y expresión del IBB en *E. coli* y en levadura. Se comprobó a continuación que el IBB purificado tenía un efecto significativo como antagonista de la nefrotoxicidad inducida por el antibiótico gentamicina (Mazza ,2000).

Otros compuestos menores del amaranto que tienen efectos fisiológicos conocidos son las lectinas. Estos compuestos han sido aislados de varias especies de amaranto, y se ha estudiado a fondo la lectina de amaranto aislada de *A. cruentus*. La concentración de amarantín en amaranto es de entre 1.6 y 1.7 mg/g (Cuadro 15). El amarantín también se une al antígeno de Thomsen- Friedenreich (antígeno T), que se

ha propuesto como marcador específico de carcinoma. El amarantín se ha utilizado como sonda histoquímica para células proliferantes en secciones de tejido de colon humano. Se ha comprobado en estudios de inhibición que el amarantín se fija a sitios diferentes en las secciones histológicas que la aglutinina de cacahuete, la cual también reconoce al antígeno T. El amarantín se une de forma selectiva a las células de la zona basal o de proliferación de la cripta colónica. Se detectó un pronunciado incremento de la fijación histoquímica del amarantín en pólipos adenomatosos y en adenocarcinomas de colon. Los datos experimentales sugieren que el amarantín puede servir para identificar la proliferación anormal en síndromes de cáncer colorrectal y la evidencia histoquímica indica que el amarantín es un reactivo anti-T más específico que la lectina de cacahuete (Mazza, 2000).

También se ha extraído de las hojas de amaranto el pigmento amarantina, que es una betacianina. La amarantina es comparable en casi todos los sentidos a la betanina, responsable del color rojo de la remolacha, y se ha comercializado como colorante alimentario natural. El pigmento se llamó amarantina en lugar de amarantín para evitar confundirlo con la lectina amarantín. La amarantina, si se extrae de forma adecuada, se podría usar como colorante natural en alimentos y en otras aplicaciones. Se ha comprobado que al germinar, las semillas de amaranto sintetizan un pigmento rojo que podría estar relacionado con la amarantina. Están realizándose más estudios en este campo (Mazza, 2000).

#### **2.1.6.7. Fibra dietética**

Crecientemente se presta más atención no sólo al contenido de fibra cruda, sino también a las fibras solubles o dietéticas totales, por sus efectos benéficos para la digestión, en especial por su capacidad de absorción de agua, captación de cationes, absorción de compuestos orgánicos y formación de geles. Repo-Carrasco (1992)

citado por Tapia *et al.* (2005) ha efectuado el análisis de la fibra dietética en los tres granos andinos, mediante el método combinado enzimático-gravimétrico (Cuadro 17).

**Cuadro 17. Contenido de fibra dietaria total (FDT), fibra dietaria insoluble (FDI) y fibra dietaria soluble (FDS) en cereales (g/100g demateria seca)**

Cereal	FDT	FDI	FDS
Arroz integral	6.03	5.20	0.83
Hojuelas de avena	14.48	11.36	3.12
Maíz amarillo	19.49	17.65	1.84
Harina de trigo integral	19.41	19.31	0.10
Cebada perlada	8.51	5.77	2.74
Quinua	7.80	5.31	2.49
Kañiwa	16.41	12.92	3.49
Kiwicha	8.95	5.76	3.19

Fuente: Repo-Carrasco (1998)

El amaranto y la quinua contienen más o menos la misma proporción de fibra dietética y sus diferentes fracciones.

Un aspecto excepcional del amaranto desde el punto de vista de la actividad biológica es su alto contenido de fibra alimentaria, que representa entre el 7.1 y el 17.5% de la semilla, dependiendo de la variedad (Cuadro 15). El amaranto contiene fibra bruta, compuesta principalmente de lignina y celulosa, y otros componentes de fibra alimentaria como hemicelulosa, sustancias pécticas, gomas y algunos otros hidratos de carbono. La fibra alimentaria se puede dividir en dos fracciones: insoluble (FDI) y soluble (FDS). La FDI incluye la celulosa, algunas hemicelulosas y lignina, mientras que la FDS incluye gomas, pectinas y otras hemicelulosas. La Fibra Dietaria Total

(FDT) de *A. hypochondriacus* está formada por un 75% de FDI y un 25% de FDS, mientras que la *A. cruentus* tiene una mayor concentración de fibra insoluble y, en consecuencia, menos fibra soluble (86% de FDI y 14% de FDS) (Mazza ,2000).

Se han estudiado los efectos fisiológicos de la fibra alimentaria de amaranto en ratas. Las dietas de amaranto dieron lugar a menores índices de colesterol sérico que los de los controles sin fibra y menores índices de colesterol hepático que los de la celulosa, una fibra poco fermentable. También se estudió el efecto hipocolesterolémico de las semillas de amaranto en ratas albinas de la raza Wistar. Los hígados de los animales alimentados con una dieta hipocolesterolémica pesaban más que los de ratas alimentadas con amaranto (Mazza ,2000).

Los autores sugieren que el amaranto se comporta como una fibra soluble en cuanto a su efecto hipocolesterolémico, pero su efecto en el colon es similar al de la fibra insoluble. Se piensa que las propiedades hipocolesterolémicas del salvado de avena y la pectina se deben a la FDS, pero como la concentración de FDS en el amaranto es en general baja, parece ser que los efectos hipocolesterolémicos asociados al amaranto se deben atribuir a componentes diferentes de los que constituyen la FDS (Mazza ,2000).

El posible modo de acción de la fibra puede ser la reducción del tiempo de tránsito en el intestino, reduciéndose así el tiempo en que el intestino está en contacto con posibles agentes cancerígenos. Otros efectos pueden ser la alteración de la flora microbiana intestinal, la fijación de posibles agentes cancerígenos, la dilución de la concentración de compuestos tóxicos debida a su capacidad de absorción de agua, y/o el cambio inducido en el comportamiento de las células intestinales, incluyendo su respuesta a las hormonas del aparato digestivo. También se ha afirmado que la fibra alimentaria puede utilizarse para el control de la obesidad (Mazza ,2000).

Evidentemente, una parte de la fibra soluble de las muestras sometidas a cocción se pierde en el agua durante la cocción, mientras que la pérdida de fibra soluble en autoclave se puede deber a una despolimerización de la fibra (Mazza ,2000).

### **2.1.7. Usos de la Kiwicha**

El grano se transforma en harina, hojuelas o pueden ser simplemente “reventado” (tipo maíz reventón). Sus hojas suelen ser utilizadas como hortalizas y los restos de la cosecha son empleados como forraje (Vásquez y Alza, 1998).

Salis (1985) citado por Quinde (1995) menciona que el grano entero puede emplearse también como cereal para el desayuno, también para papillas y dulces. La harina de amaranto es especialmente utilizada en la elaboración de panes, sin levadura, donde puede ser usada sola o como ingrediente predominante. Para elaborar panes con levadura, la harina de amaranto debe ser mezclada con harina de trigo, así se puede incorporar un 25% de harina de kiwicha sin alterar la calidad del pan, inclusive se puede utilizar en la elaboración de fideos y galletas (Quinde, 1995).

La planta produce abundante follaje que se utiliza como hortaliza y como forraje. Tallo, hojas e inflorescencia se emplean en la alimentación de los animales (Tejerina y Arenas, 2001). Las hojas de ciertas variedades de kiwicha presentan antocianinas, sustancia de color púrpura, que se usa tradicionalmente en tintes para fibra y se pueden emplear en la industria alimentaria por no ser tóxicos.

Según la National Research Council (1984) citado por Macedo (1990), los amarantos son utilizados en:

- Tortillas (grano y harina)
- Panqueques (grano hinchado, grano integro y harina)

- Panes
- Potajes (grano hinchado en leche)
- Rollos, bollos o panecillos (harina, grano hinchado, grano tostada y grano integro)
- Bebidas (harina y grano hinchado)
- Galletas dulces y saladas (harina aproximadamente 10-20% dependiendo de la especie)
- Desayuno (hojuela de amaranto)
- Sopas (hoja de amaranto)
- También se ha estudiado el grano germinado para uso alimentario en niños porque el contenido proteico es mayor al igual que su digestibilidad.

Otro de los usos aplicados al coime o amaranto es por sus propiedades curativas. Se afirma que en estado silvestre posee más valor medicinal, donde las cualidades medicinales de las hojas son transferidas al agua, cuando se preparan infusiones o mates (Tejerina y Arenas, 2001).

La infusión de la panoja de esta especie se utiliza como astringente para inhibir las metorragias (Tejerina y Arenas, 2001).

En la región de Piura se considera que la kiwicha (*Amaranthus caudatus*) es buena para los bronquios y especialmente para tratar tuberculosis y problemas de los pulmones (Tejerina y Arenas, 2001).

En Venezuela, donde es conocido como hierba caracas o pira es considerada como excelente para el oxigenado cerebral: se toman dos tazas de una infusión fuerte al día o se comen las hojas con las ensaladas (Tejerina y Arenas, 2001).

También el coime o amaranto se emplea como flor de primeros auxilios para estados mentales alterados, paranoia, alucinaciones, autismo y otras enfermedades neuróticas. Además sirve para aliviar pesadillas y desorientación. Ayuda a recuperar el sistema inmunitario durante y después de infecciones bacterianas y víricas. Estimula la glándula timo y la glándula pituitaria (Tejerina y Arenas, 2001).

### **2.1.8. Efectos de los procesamientos en la kiwicha**

La deshidratación puede provocar modificaciones tales como pérdida del valor nutritivo debido especialmente a la destrucción de lisina en los procesos de pardeamiento no enzimático y también disminución de la digestibilidad como consecuencia de las interacciones entre proteínas desnaturalizadas, lípidos o hidratos de carbono (Castro, 1987).

Además el mismo autor menciona que las semillas reventadas, tienen mejor digestibilidad que las crudas y por tanto sería conveniente introducir el “reventado” o el “tostado” como un paso previo para la producción de los derivados de kiwicha y quinua. Además menciona que la digestibilidad de las semillas reventadas de la kiwicha es mayor (74%), en comparación a la quinua (72%).

Uno de los compuestos más valiosos de los granos andinos es el aminoácido lisina. Este es sin embargo termolábil y puede reaccionar con otros compuestos del grano (por ejemplo, en la reacción de Maillard) disminuyendo su biodisponibilidad. Los procesos que utilizan calor seco, como el tostado y reventado o expandido de los granos pueden disminuir notablemente la disponibilidad de la lisina. Así, la cifra de lisina disponible en g/16 g N para el grano de amaranto es de 7.21; para el grano de amaranto reventado en calor seco es de 4.09; lo mismo para el grano de qañiwa: 6.35 y para la harina tostada (cañighuaco) 3.25, con una pérdida cercana al 50% (Repo-Carrasco, 1992 citado por Tapia *et al.*, 2005).

El procesamiento de las semillas de amaranto mejora las características nutritivas de sus proteínas. Así, el NPR puede aumentar desde 1.74 -2.35 del amaranto crudo hasta 2.2-3.6 dependiendo del tratamiento (ver Cuadro 18).

**Cuadro 18. Efectos de diferentes tratamientos sobre las características nutritivas de las proteínas de amaranto y quinua.**

Característica / Proceso	Amaranto	Quinua	Caseína
<b>Coefficiente de eficacia proteica (PER)<sup>1</sup></b>			
Crudo	1.6-2.5	1.95-2.33	2.5
Cocido		2.5	
<b>Coefficiente Proteico Neto (NPR)</b>			
Crudo	1.74-2.35	2.91	3.65
Secado en tambor	2.6		
Extrusado	3.3-3.6		
En copos	2.7-2.8		
En palomitas	3.2		
Tostado al horno	2.2		
Hervido	3.4-3.6		
<b>Utilización Proteica Neta (NPU) (%)</b>			
Crudo	73.8	75.7	94.7-96.0
En copos	78.4		
En palomitas	76.0		
Tostado al horno	76.8		
<b>Digestibilidad proteica (%)</b>			
Crudo	88.5	91.7-92.1	92.0
En copos	89.5		
En palomitas	85.6		
Tostado al horno	89.9		
<b>Valor Biológico de la Proteína (%)</b>			
Crudo	73.0	82.6	95.0-97.1
En copos	87.6		
En palomitas	86.0		
Tostado al horno	85.5		

<sup>1</sup> Ajustado.

Fuente: Paredes-López *et al.* (1994) y Morales *et al.* (1988) citados por Mazza (2000)

En concreto, la cocción en húmedo aumenta el NPR del amaranto hasta 3.4-3.6, un valor similar al de la caseína. La digestibilidad proteica (proteína verdadera) del amaranto tostado es de 89.9% y su valor biológico de 85.5%, valores similares a los de la caseína (Mazza, 2000).

Se han realizado algunos estudios sobre la calidad proteica del amaranto procesado y sus efectos sobre la salud de niños y adultos. Por ejemplo, Morales *et al.* (1988) citado por Mazza (2000), estudiaron los efectos de productos de amaranto tostados al horno, en palomitas y en copos, en infante y niños convalecientes y desnutridos. En este estudio la retención de nitrógeno aparente del amaranto fue superior a la de la mayor parte de cereales estudiados con contenidos iguales de nitrógeno y similar a la del arroz o a la del maíz de alto contenido de lisina.

Los granos malteados ofrecen una alternativa interesante para aumentar el contenido de energía y también de nutrientes en los alimentos destinados a la alimentación infantil. El objetivo de la germinación es lograr el desdoblamiento de nutrientes como almidón, proteínas y grasas mediante enzimas y obtener de esta manera un alimento más digerible (Tapia *et al.*, 2005) Se ha probado el malteado de quinua, amaranto y quañiwa (Repo-Carrasco, 1992 citado por Tapia *et al.*, 2005). Estos se dejaron germinar durante 1 a 3 días y después se analizó su contenido de azúcares libres y almidón (Cuadro 19). La secuencia del proceso para el malteado de granos andinos consistió en limpieza, lavado y remojo durante 14 a 15 horas con 35 a 40% de humedad, germinación en condiciones ambientales, secado a 58-60°C, revegetado y molienda. El amaranto mostró dificultades para la germinación; se demoró más tiempo y su poder germinativo fue bajo (50 a 60%). En todas las muestras se puede apreciar el aumento de la mayoría de los azúcares simples durante la germinación y la disminución simultánea de almidón. Se concluye que la duración óptima de germinación para el amaranto es de 3 días.

**Cuadro 19. Contenido de almidón y azúcares en grano de amaranto germinado (g/100g)**

Muestra/días de germinación	Glucosa	Fructosa	Sacarosa	Maltosa	Almidón
0	0.75	< 0.2	1.3	1.3	24*
2	6.9	< 0.2	2.1	13.0	48
3	1.7	<0.2	2.1	6.3	41

\*Los resultados variaron entre 17-31 g/100g

Fuente: Repo-Carrasco (1992) citado por Tapia *et al.*, (2005)

### 2.1.9. Harina Tostada de Kiwicha

En el Cuadro 20 se muestra la composición proximal de la harina tostada de kiwicha en comparación con el grano crudo.

**Cuadro 20. Composición proximal del grano crudo y la harina tostada de kiwicha**

Composición	Grano de Kiwicha	Harina Tostada de Kiwicha
Humedad (%)	11.05	2.76
Proteínas (%)	16.08	15.64
Grasa (%)	7.83	7.61
Carbohidratos (%)	59.99	69.35
Fibra Cruda (%)	3.08	2.96
Cenizas (%)	2.5	2.28
Energía (Kcal/100g)*	377	428

Fuente: Ruiz (2002). \*Collazos *et al.* (1996).

## 2.2. Alimentos Funcionales

En Japón, en la década de los 80 se publicó la reglamentación para los "Alimentos para uso específico de salud" ("*Foods for specified health use*" o FOSHU), referidos a aquellos alimentos que contienen componentes que desempeñan una función favorable y específica en las funciones fisiológicas del organismo humano, que van más allá de su contenido nutricional. Son más de 100 los productos que tienen la licencia FOSHU en Japón (Vasconcellos, 2001 citado por Ojeda, 2003).

El término "fitoquímicos" constituye la evolución más reciente del término "alimentos funcionales" y enfatiza las fuentes vegetales de la mayoría de los compuestos preventivos de enfermedades (Vasconcellos, 2001 citado por Ojeda, 2003).

ILSI (International Life Sciences Institute) los define como "*alimentos que, por virtud de la presencia de componentes fisiológicamente activos, proveen beneficios para la salud, más allá de la acción clásica de los nutrientes*" (Araya y Lutz, 2003).

En cuanto a los alimentos funcionales, la legislación europea los considera como alimentos propiamente dichos, siempre y cuando puedan ejercer un efecto beneficioso ingiriendo las cantidades que normalmente son consumidas en la dieta. ([www.worldnutra.com](http://www.worldnutra.com), 2002).

Un alimento funcional se puede definir como "cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes adicionales que pueden favorecer la salud y/o prevenir enfermedades" y un nutracéutico es un ingrediente alimentario, aditivo o producto elaborado a partir de un alimento que se comercializa en forma de píldoras, polvos u otras presentaciones no asociadas generalmente con los alimentos y que ha

demostrado tener propiedades fisiológicas beneficiosas o proteger de enfermedades crónicas (Gimeno, 2003).

No existe un acuerdo para definir en forma precisa lo que son los "Alimentos Funcionales". Muchos consideran que se trata de un concepto aún en desarrollo y que bien podría considerarse como productos intermedios entre los tradicionales y la medicina. Los alimentos funcionales podrán definirse como "cualquier alimento en forma natural o procesado, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen a la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona" (Vasconcellos, 2001 citado por Ojeda, 2003).

Con el paso del tiempo, otros términos creados para caracterizar los "alimentos funcionales" incluyen:

- Alimentos genéticamente diseñados
- Farmacoalimentos
- Fitoalimentos, fitonutrientes
- Sustancias fitogénicas
- Alimentos rendimiento
- Alimentos inteligentes
- Alimentos terapéuticos
- Alimentos de valor añadido
- Alimentos genómicos
- Prebióticos/Probióticos
- Fuentes fitoquímicas
- Alimentos superiores
- Alimentos hipernutritivos

Los extractos de algunas sustancias fitoquímicas no son tan efectivos como cuando aquella sustancia se encuentra en su forma natural como parte de un alimento. Esto sugiere que algunos fitoquímicos podrían ser no metabolizados en su forma pura y que algunos necesitan la presencia de otros compuestos o componentes alimenticios para funcionar apropiadamente. Se podría concluir que no necesariamente un compuesto fitoquímico individual, sino la combinación de varios entre sí o con otras sustancias en los alimentos es lo que favorece su absorción, transporte a los tejidos, metabolismo y su función protectora contra las enfermedades (Vasconcellos, 2000 citado por Gamarra, 2003).

En el Cuadro 21 se observa las principales sustancias que podrían prevenir enfermedades.

**Cuadro 21. Componentes funcionales de algunos alimentos**

CLASE / COMPONENTE	FUENTE	BENEFICIO POTENCIAL
COMPONENTE ANTIADHERENTE	Coctail de jugo de arándano	Puede mejorar la salud del tracto urinario
HIDROLIZADO DE COLÁGENO	gelatina	Puede ayudar a mejorar algunos síntomas relacionados con la osteoartritis
CAROTENOIDES Alfa-caroteno Beta-caroteno, Luteína Licopeno, zeaxantina	Zanahorias, camotes, vegetales verdes, productos de tomate (catsup, salsas, etc) huevos, cítricos, maíz	Neutraliza los radicales libres que pueden causar daños a los componentes de células, contribuye a mantener una visión saludable, puede reducir el riesgo de cáncer. Potente antioxidante.
FIBRA DIETÉTICA Fibra insoluble Betaglucano Fibra soluble	Salvado de trigo Avenas psilium	Puede reducir el riesgo de cáncer de pecho o colon, reduce el riesgo de enfermedades cardiovasculares (CVD)
ACIDOS GRASOS 3 ácidos grasos omega DHA/EPA, ácido linoleico conjugado (CLA) Ácido $\alpha$ -linolénico	Atún; pescado y aceites marinos, queso, productos de carne. Soya, nueces y almendras	Puede reducir el riesgo de CVD y mejorar las funciones mentales y visuales, puede mejorar la composición del cuerpo, puede disminuir el riesgo de ciertos cánceres
FLAVONOIDES Antocianidinas, flavones	Frutas de cítricos, frutas/vegetales	Neutralizan los radicales libres, bloquean los receptores de ciertas hormonas involucradas en la ocurrencia de cáncer.

Catequinas, Flavonoides		
GLUCOSINOLATOS, INDOLES, ISOTIOCIANATOS sulforafano	Vegetales crucíferos (brócoli, col), rábano, mostaza	Neutralizan los radicales libres, estimulan enzimas anticancerígenos
FENOLES Ácido cafeico Ácido ferúlico	Frutas, vegetales (perejil, zanahoria, brécol, col, tomates, berenjena, pimientos), cítricos, granos integrales, cerezas	Actividades antioxidantes, puede reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, del corazón y de los ojos. Podrían ayudar al organismo a resistir procesos carcinogénicos por inhibición de la formación de nitrosaminas y por efecto en la actividad de ciertas enzimas
FITOESTRÓGENOS ISOFLAVONOIDES Diadzeína Genisteína LIGNANOS	Alimentos de soya y a base de soya, lino, centeno, vegetales	Puede proteger contra enfermedades del corazón y algunos tipos de cáncer, puede disminuir el colesterol LDL
ESTEROLES DE PLANTAS Estanol ester	Productos untables	Disminuye los niveles de colesterol de la sangre al inhibir la absorción del colesterol
PREBIÓTICOS/ PROBIÓTICOS Bifidobacterias Lactobacilos Fructo-oligosacáridos (FOS)	Yogurt, otros lácteos, alcachofa Jerusalén, charlotte, cebolla en polvo	Favorecen la función gastrointestinal y la producción de vitamina B12 y vitamina K
SAPONINAS	Soya, alimentos de soya, alimentos que contienen proteínas	Puede disminuir el colesterol LDL; contiene enzimas anticancerígenos
SULFUROS TIOLAS Sulfuro de Dialil, Trisulfuro de metil alil, Ditioiltiones	Cebolla, ajo, aceitunas, porro, escalonia, vegetales crucíferos	Disminuye el colesterol LDL, mantiene saludable el sistema inmunológico
*MONOTERPENOS	Perejil, zanahorias, col brécol, tomates, granos integrales berenjenas, pimientos, pepinos frutas cítricas, cerezas,	Antioxidantes de acción anticancerígeno. Inhiben la producción de colesterol y ayudan en la protección de la actividad de ciertas enzimas.
*TRITERPENOIDES	Frutas cítricas, extracto de raíz de licorice, productos de soya.	Previenen las caries y actúan como agentes antiulcerativos. Se unen al estrógeno e inhiben los procesos inflamatorios por supresión de la actividad de ciertas enzimas

Fuente: Consejo Latinoamericano de Información Alimentarias (2001) citado por Ojeda (2003) y \*Vasconcellos (2001) citado por Gamarra (2003)

Según Tojo *et al.* (2001), citan las siguientes condiciones que debe cumplir un alimento funcional:

- Producir efectos fisiológicos beneficiosos sobre el estado de salud y reducir el riesgo de enfermedad.
- Los efectos benéficos sobre la salud deben estar demostrados con una sólida base científica.
- Los componentes responsables de los efectos fisiológicos deben ser caracterizados por sus propiedades físicas y químicas, así como cuantificado e identificado por métodos analíticos disponibles.
- El componente citado tendrá que haber sido evaluado *in vivo*, en relación con su absorción, distribución, metabolismo, excreción y mecanismos de acción.

### **2.2.1. Clasificación de los alimentos funcionales**

De acuerdo a los Japoneses los “alimentos funcionales” pueden clasificarse en tres categorías:

1. Alimentos en base a ingredientes naturales
2. Alimento que deben consumirse como parte de la dieta diaria
3. Alimentos, que al consumirse cumplen un papel específico en las funciones del cuerpo humano, incluyendo:
  - Mejoramiento de los mecanismos de defensa biológica;
  - Prevención o recuperación de alguna enfermedad específica;
  - Control de las condiciones físicas y mentales; y,
  - Retardo en el proceso de envejecimiento

Según Larondelle (2001) citado por Ríos (2004) existen diferentes tipos de alimentos funcionales, entre los que destacan:

- a. Alimentos naturales
- b. Alimentos enriquecidos con un componente externo
- c. Alimentos a los que se le disminuye un componente negativo
- d. Alimentos con una biodisponibilidad mejorada.

Según Muñoz (2005), otra forma de clasificar a los alimentos funcionales es la siguiente:

**a.- Alimentos de bajo valor nutritivo**

Este grupo de alimentos son la cebolla y el ajo, alimentos utilizados como condimentos o especias en guisos y ensaladas. Ambos productos se justifican como alimentos saludables por su alto aporte de flavonoides, compuestos polifenólicos con propiedades antioxidantes y compuestos organoazufrados, respectivamente, cuyo consumo se asocia en estudios epidemiológicos y experimentales con disminución de riesgos de enfermedad cardiovascular, stress oxidativo y además poseen un efecto anticancerígeno.

**b.- Alimentos con buen valor nutritivo**

Un ejemplo de este grupo de alimentos es el poroto común o frijol, que presenta un alto contenido de proteínas, almidones de velocidad de digestión intermedia, un alto contenido de fibra dietética, fitatos, taninos y oligosacáridos no digeribles. El yogur es un alimento funcional con buen valor nutritivo por su alto aporte de calcio, proteínas de buena calidad, alto contenido de riboflavina y aporte de probióticos, que le otorgan el sello de alimento funcional.

**c.- Alimentos saludables no convencionales**

No son consumidos habitualmente en la dieta de gran parte de países. La linaza contienen elevados porcentajes de ácidos grasos PUFA, precursor de EPA y DHA, flavonoides, tocoferoles y mucilagos.

**d.- Alimentos saludables condicionados**

Por ejemplo el Cacao contiene catequina, epicatequina, quercetina, antocianidinas, cianidinas sin embargo presentan gran contenido de grasa saturada.

**e.- Alimentos controvertidos**

En este grupo se encuentran el vino y la cerveza, que provocan una gran discusión en cuanto a la recomendación que propende a un aumento de su consumo. Aunque contienen flavonoides y otros fitoquímicos saludables, el consumo de estas bebidas alcohólicas debe moderarse en países en que el alcoholismo es un riesgo para la salud.

**f.- Alimentos probióticos**

El concejo europeo sobre alimentos funcionales define al alimento probiótico como aquel que incorpora microorganismos vivos, *Lactobacillus* y *bifidobacterias*, que consumidos en cantidades suficientes deben producir efectos benéficos para la salud y el bienestar más allá de los efectos nutricionales habituales.

**g.- Alimentos prebióticos**

El consenso europeo sobre alimentos funcionales define a los prebióticos como aquellos alimentos que incorporan ingredientes o sustancias no digeribles, carbohidratos que consumidos en cantidades suficientes deben producir efectos beneficiosos sobre la salud y el bienestar más allá de los efectos nutricionales habituales.

La administración de hidratos de carbono no digeribles y la fermentación bacteriana a los mismos favorece el crecimiento selectivo de bifidobacterias y lactobacillus en detrimento del crecimiento de patógenos en la flora colónica.

El aporte de prebióticos en la dieta se realiza bien por medio de alimentos naturales o incorporándolos a alimentos como productos lácteos, bebidas, pastelería, cereales, etc.

#### **h.- Alimentos simbióticos**

Son alimentos a los que se han incorporado componentes probióticos y prebióticos. Están representados fundamentalmente por los productos lácteos fermentados. Esta simbiosis mejora la supervivencia e implantación de los microorganismos probióticos y los efectos sobre la salud y el bienestar, con la prevención del riesgo de enfermedades. El efecto debe ser aditivo o hasta sinérgico.

### **2.3. Antioxidantes Naturales**

La oxidación de las macromoléculas biológicas, lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN en diferentes tejidos y órganos pueden generar un daño irreversible que, si es muy extenso, produce enfermedades y lleva incluso a la muerte celular. Esto ocurre por acción de los radicales libres, moléculas altamente reactivas que tienen un electrón desapareado en sus órbitas externas, y que provienen de diversas y numerosas fuentes tanto internas como externas al organismo. Los radicales libres oxidan las macromoléculas cuando les quitan electrones para así quedar ellos mismos estables, con sus electrones en pares, en un proceso oxidativo que constituye una cadena y que es, en sí mismo dañino (Leighton *et al*, 1998 citado por Temoche, 2003).

Los radicales libres han sido implicados por jugar un rol en más de 100 enfermedades, incluyendo cáncer, arterioesclerosis, artritis reumatoidea, enfermedades inflamatorias del intestino y cataratas (Parr and Bowell, 2000).

Frente al daño que produce la oxidación, el organismo despliega sistemas antioxidantes. Estos operan, en parte, a través de moléculas que protegen las estructuras biológicas impidiendo que sean oxidadas. Vitamina E, vitamina C y flavonoides, son algunas de estas moléculas de bajo peso molecular que entregan sus electrones a los radicales libres, poniendo fin a la cadena de oxidación. Cuando el

equilibrio que existe entre antioxidantes y oxidantes se pierde a favor de los radicales libres, se cae en un estrés oxidativo y se produce una enfermedad (Leighton *et al.*, 1998 citado por Temoche, 2003).

El término antioxidante está muy usado y abusado, ya que es importante entender que un antioxidante efectivo en un sistema de ensayo no es necesariamente un antioxidante efectivo en otro (Parr and Howell, 2000).

La acción de un antioxidante puede así aumentar desde una combinación de muchos y distintos eventos químicos, los cuales incluyen inhibición de enzimas, quelación de metales, donación de hidrógenos y oxidación. Posteriormente, la implicancia en la salud del antioxidante depende de cómo es absorbido por el cuerpo y como es metabolizado. Afortunadamente, diferentes fenólicos tiene un amplio rango de hidrofobicidad, y así ambos medios acuoso o lipofílico podrían ser protegidos (Parr and Howell, 2000).

Varias observaciones incluídas la detección de un periodo de inducción, el efecto pro o antioxidante de pequeñas concentraciones de impurezas y el efecto de la luz UV claramente permiten concluir que la reacción entre lípidos y el oxígeno, denominado autooxidación, es una reacción en cadena de un radical libre. Como todas las reacciones en cadena, el mecanismo puede discutirse en términos de inicio de la reacción durante la formación de radicales libres, reacciones de propagación donde los radicales libres son convertidos a otros radicales, y reacciones terminales donde se envuelve la combinación de dos radicales con la formación de productos estables (Gordon, 1990 citado por Temoche, 2003).

Actualmente, se ha incrementado la evidencia que las especies de oxígeno reactivo (ROS) y daño oxidativo están relacionadas con varios problemas inflamatorios y degenerativos. El daño oxidativo puede generar un incremento en la producción de radicales libres debido a causas exógenas como la radiación, polución y humo de

cigarro, etc., o por fuentes endógenas como inflamaciones, originadas por paro respiratorio y muerte xenobiótica (Ghiselli *et al.*, 2000 citado por Temoche, 2003).

La mayoría de las especies vivientes poseen sistemas de defensa muy efectivos para protegerse contra el estrés oxidativo inducido por los ROS. Sin embargo, la función de estos mecanismos de protección decrece gradualmente a raíz del envejecimiento y da como resultado desviaciones en el equilibrio redox que poseen los organismos saludables. Es por ello, que para contrarrestar estos efectos, existe la necesidad de proveer al cuerpo humano con un constante suministro de fitoquímicos en la dieta normal de los individuos (Sato y col., 1996 citado por Gamarra, 2003).

La sangre, dentro de la estrategia para mantener el balance Redox en contra de las condiciones de oxidación (por ejemplo inflamaciones crónicas, humo de cigarro, dietas pobres en antioxidantes o ricas en pro-oxidantes), juega un rol fundamental debido al transporte y redistribución de antioxidantes a cualquier parte del cuerpo. Por lo tanto, el estado antioxidante del plasma es el resultado de la interacción de diferentes compuestos y sistemáticas interacciones metabólicas (Ghiselli *et al.*, 2000 citado por Temoche, 2003).

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Estos pueden clasificarse en naturales o sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinogénicos (Martínez- Valverde y col., 2000 citado por Gamarra, 2003).

Se ha confirmado que el consumo de frutas y vegetales ha sido asociado a la menor incidencia de sufrir diferentes enfermedades crónicas y por ende una menor mortalidad. La protección que brindan contra las enfermedades degenerativas como cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebro vasculares, ha sido atribuida a su

alto contenido de varios antioxidantes (Pineda *et al.*, 1999 citado por Temoche, 2003).

Un antioxidante es cualquier sustancia que está presente en bajas concentraciones comparada con un sustrato oxidable y detiene o previene significativamente la oxidación de dichos sustratos. El sistema normal de defensa en sistemas biológicos consiste en sistemas enzimáticos y no enzimáticos. Aunque ambos son importantes en los sistemas biológicos, considerando el rol de los alimentos antioxidantes, consideraríamos al sistema biológico antioxidante no enzimático el cual incluye sustancias como:  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C), glutatión, flavonoides,  $\beta$ -caroteno (precursor de la vitamina A), ácido úrico y proteínas del plasma como la albúmina, ceruloplasmina, transferrina, metalotioneína, etc. (Prior, 1998 citado por Ojeda, 2003).

### **2.3.1. Clasificación**

El organismo tiene un eficiente sistema para protegerse del daño oxidativo. Los mecanismos antioxidantes con que operan los seres vivos, particularmente los seres humanos son múltiples dependen del tipo de especie dañina y del lugar donde ésta se genera. Dentro de las células, el sistema antioxidante es principalmente de tipo enzimático y en el espacio extracelular, es decir en los fluidos biológicos como el plasma, el sistema antioxidante es de tipo no enzimático. De este modo, contamos con antioxidantes específicos capaces de actuar oportunamente en distintos lugares (Leighton *et al.*, 1998 citado por Temoche, 2003).

La primera defensa antioxidante al interior de la célula es de tipo enzimático y está dada por las llamadas enzimas antioxidantes. Estas son proteínas y no se consumen al reaccionar con los radicales libres. Son endógenas, lo que quiere decir que se

sintetizan al interior del organismo, y su acción depende de la presencia de un metal que puede ser cobre, hierro, magnesio, zinc o selenio. De este modo, la deficiencia de alguno de estos metales afecta la función de dicha enzima y por ello se les ha llamado metales antioxidantes. Estas actúan de dos formas: evitan la formación de radicales libres a partir de otras moléculas, que es lo que hace la catalasa con el peróxido de hidrógeno y la glutato peroxidasa con los peróxidos lipídicos, o convierten los radicales libres existentes en moléculas menos perjudiciales antes que puedan reaccionar y dañar otras moléculas vecinas, como en el caso de la superóxido dismutasa (Leighton *et al.*, 1998 citado por Temoche, 2003).

A la primera defensa antioxidante se suma otra: los antioxidantes no enzimáticos que actúan tanto a nivel celular como extracelular. Son los responsables de la capacidad antioxidante de los fluidos biológicos, como el plasma, y de la protección del daño oxidativo de las distintas partículas y macromoléculas circulantes (Leighton *et al.*, 1998 citado por Temoche, 2003).

Esta segunda defensa antioxidante está formada por distintos compuestos antioxidantes, endógenos y exógenos, que atrapan o neutralizan radicales libres. A diferencia de lo que ocurre con las enzimas antioxidantes, los compuestos antioxidantes se modifican al reaccionar con los radicales libres, necesitan ser reemplazados. Aquellos de origen endógeno, como glutatión, urato, ubiquinol y proteínas plasmáticas, son sintetizados por el organismo humano y, por lo tanto, cuando son modificados se ponen en funcionamiento mecanismos de síntesis para reemplazarlos. Los de origen exógeno; es decir, provenientes de la dieta, como vitamina C, vitamina E, carotenoides, polifenoles, flavonoides y antioxidantes químicos sintéticos, al no ser sintetizados por las células, para ser reemplazados necesitan ser nuevamente ingeridos en la dieta (Leighton *et al.*, 1998 citado por Temoche, 2003).

Los antioxidantes son clasificados por Gordon (1990) citado por Temoche (2003) en 5 tipos:

1. Antioxidantes Primarios: Aquellos compuestos, principalmente sustancias fenólicas, que terminan los radicales libres en cadenas de oxidación lipídica. Tocoferoles sintéticos y naturales, BHA, BHT, TBHQ, que funcionan como donadores de electrones.
2. Reductores de oxígeno: Como el ácido ascórbico (vit. C), palmitato ascórbico, ácido eritórbito, sal de sodio, etc., que reaccionan con el oxígeno y así pueden removerlos en un sistema cerrado. La regeneración de los fenólicos antioxidantes, un mecanismo enteramente diferente, por el ácido ascórbico ha sido también propuesto para explicar la acción sinérgica que existe en la mezcla de antioxidantes.
3. Antioxidantes secundarios: Como el tio propionato diláurico y el ácido tiopropiónico, cuya función es convertir los lípidos hidroperóxidos en productos estables finales. Estos compuestos aprobados por la FDA, no están aún aceptados para su uso en alimentos.
4. Antioxidantes enzimáticos: Glucosa oxidasa, dismutasa superoxidasa, catalasa, tioglutato peroxidasa, etc. Estos funcionan por remoción disolución del oxígeno.
5. Agentes quelantes o secuestrantes: Ácido cítrico, aminoácidos, EDTA, etc. Los cuales quelan los iones metálicos tales como el cobre y el plomo que promueven la oxidación lipídica hacia la acción catalítica. Los queladores son referidos algunas veces como sinérgicos desde que realzan la acción antioxidante de los fenólicos. Esto puede presentar un pequeño o ningún efecto antioxidante si son usados solos, excepto los aminoácidos que pueden ser anti o pro oxidantes. Los fosfolípidos actúan como antioxidantes sinérgicos en algunos sistemas.

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente –membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular.

La acción antioxidante comienza durante el almacenamiento y la preparación de las comidas. Esta impide la oxidación de los ácidos grasos presentes en los distintos alimentos. Luego, en el proceso de digestión, donde se producen necesariamente oxidaciones, la presencia de antioxidantes hidrosolubles y liposolubles es fundamental para la protección de los lípidos. Los lípidos oxidados también son absorbidos en el intestino; pasan a formar parte de estructuras celulares, como membranas, y macromoléculas, como LDL (colesterol malo) y dañan las células del organismo. En el plasma, los antioxidantes evitan la oxidación de hidratos de carbono, proteínas y lípidos, como los que forman parte de las LDL. En las células, evitan la oxidación del ADN, molécula que contiene la información genética y de otras estructuras y moléculas. En el Cuadro 22 se puede apreciar los antioxidantes en determinados microambientes.

**Cuadro 22. Antioxidantes presentes en determinados microambientes**

<u>INTRACELULAR</u>	<u>MEMBRANA</u>	<u>EXTRACELULAR</u>
- <i>Superóxido dismutasa</i>	- <i>Vitamina E</i>	- <i>Ceruloplasmina</i>
- <i>Catalasa</i>	- <i>β-carotenos</i>	- <i>Transferinas</i>
- <i>Peroxidasa</i>	- <i>Ubiquinol</i>	- <i>Lactoferrinas</i>
- <i>Glutathion</i>		- <i>Albuminas</i>
- <i>Proteínas que ligan metales</i>		- <i>Vitamina C</i>
- <i>Vitamina C</i>		- <i>Acido urico</i>
- <i>Polifenoles</i>		- <i>Vitamina E</i>

Fuente: Muñoz (2005)

### 2.3.2. Radicales libres y antioxidantes

Un radical libre (RL) es una especie que contiene uno o más electrones desapareados y es capaz de existir independientemente (Halliwell *et al.*, 1995 citado por Sanchez-Moreno, 2002).

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración especial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo.

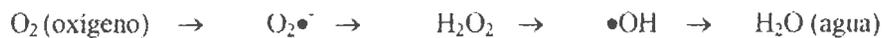
- Poseen estructura birradicálica.
- Son muy reactivos, tienen una vida corta media.
- Se producen por diferentes mecanismos:
  - Cadena respiratoria mitocondrial.
  - Cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos.
  - Reacciones de oxidación a nivel de biomoléculas.

Según Prior (1998) citado por Ojeda (2003), entre los radicales producidos en los sistemas biológicos se encuentran:

- Radical peroxilo ( $\text{ROO}\bullet$ ), el cual es el radical más común en los sistemas biológicos.
- Radical hidroxilo ( $\bullet\text{OH}$ ), el cual es siempre dañino.
- Radical superóxido ( $\text{O}_2\bullet^-$ ), el cual es producido por células fagocitos y puede ser benéfico por la inactivación de virus y bacterias.

- Óxido nítrico (NO•), el cual tiene efectos benéficos como agente vasodilatador, puede funcionar como un neurotransmisor y puede ser producido por macrófagos y actuar como asesino de parásitos. El óxido nítrico puede también ser dañino cuando reacciona con superóxido para formar el anión peroxinitrito.
- Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), el cual no es un radical libre, pero puede causar daño oxidativo eventual en células.

Un radical libre se produce como producto del metabolismo celular a través del siguiente proceso metabólico:



Existen algunas circunstancias en las que también se producen radicales libres:

- Dieta hipercalórica.
- Dieta insuficiente en antioxidantes.
- Procesos inflamatorios y traumatismos.
- Fenómeno de isquemia y reperfusión.
- Ejercicios extenuantes.
- Efecto nocivo de los radicales libres
- Estrés, contaminación ambiental, tabaquismo, alcoholismo, dieta inadecuada, sobre exposición a radiaciones solares.

El daño celular producido por los RL ocurren sobre diferentes macromoléculas.

- a) Lípidos: Es aquí donde se produce el daño mayor en un proceso que se conoce como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos

poliinsaturados (PUFA), ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular.

- b) Proteínas: hay oxidación de un grupo de aminoácidos como la fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además se forman entrecruzamiento de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.
- c) ADN: Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases.

El concepto básico de la actividad antioxidante de varios compuestos naturales y sintéticos comprende una transición redox mediante la cual la molécula antioxidante dona un electrón (o átomo de hidrógeno, equivalente a la donación de un electrón y un H<sup>+</sup> al radical libre R•). Durante el transcurso de esta transferencia de electrones, el carácter radical (inestabilidad) es transferido al antioxidante, formándose un antioxidante radical derivado (Cadenas, 2001 citado por Ojeda, 2003). En la siguiente ecuación se muestra la acción de un flavonoide sobre un radical libre:



Cualquiera sea el mecanismo inherente a los efectos antioxidantes de los flavonoides, estos compuestos, al igual que todos los antioxidantes, deben reunir dos requisitos básicos para ser considerados como tales: en primer lugar, aun en bajas concentraciones deben proteger los compuestos contra la oxidación o el daño de radicales libres y, en segundo lugar, el radical flavonoide (aroxil radical) así formado debe ser lo suficientemente estable para que la función antioxidante sea efectiva. La falta de estabilidad que pueda tener el radical aroxilo está en la base del efecto prooxidante de algunos flavonoides. A su vez, el radical aroxilo puede ser recuperado por otros antioxidantes, como el ascorbato (Cárdenas, 2001 citado por Ojeda, 2003).

Radical flavonoide (O●) + ácido ascórbico → Flavonoide (OH) + radical ascorbato

Muchos flavonoides presentan un alto potencial reactivo, por presentar una capacidad de transferir moléculas de hidrógenos y mantener estables a los radicales libres. Sin embargo, presentan un rol de quelar metales con hierro y cobre inducido por reacciones de los radicales libres.

### 2.3.3. Capacidad Antioxidante

La **actividad antioxidante** corresponde a la razón constante de un solo antioxidante en contra de un radical libre dado. La **capacidad antioxidante** es la medida de las moles de un radical libre dado reducido por una solución prueba, independientemente de la actividad antioxidante de cualquier antioxidante presente en la mezcla (Ghiselli *et al.*, 2000 citado por Temoche, 2003).

El concepto básico de actividad antioxidante de varios compuestos naturales y sintéticos comprende una transición redox mediante la cual la molécula antioxidante dona un electrón o átomo de hidrógeno, equivalente a la donación de un electrón y un H<sup>+</sup> al radical libre R<sup>\*</sup> (Cadenas, 2000 citado por Gamarra, 2003).

La capacidad antioxidante de un alimento depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en él. La mayoría de los compuestos antioxidantes de las frutas y verduras se deben a ciertos compuestos como la vitamina C, vitamina E, o β-caroteno, además de los recientes estudiados y caracterizados compuestos fenólicos (flavones, isoflavonas, flavonones, antocianinas, catequinas, e isocatequinas), estos últimos son frecuentes de la dieta humana y han demostrado tener una alta capacidad antioxidante (Wang *et al.*, 1996 citado por Temoche, 2003).

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Estos pueden clasificarse en naturales o sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos (Martinez-Valverde y col., 2000 citado por Gamarra, 2003).

El metabolismo normal del oxígeno lleva a la producción de especies oxidantes. Estas especies reaccionan químicamente con los componentes celulares, modificando o suprimiendo su función biológica. Los organismos se defienden de este daño mediante una compleja red de defensas antioxidantes (Fraga, 1999 citado por Gamarra, 2003).

El oxígeno, componente vital para la supervivencia de las especies humanas, está presente en la atmósfera en forma de un triplete estable ( $^3\text{O}_2$ ). Una vez inhalado, sufre un proceso de reducción gradual hasta ser metabolizado convirtiéndose en agua. Durante este proceso, se forma una pequeña cantidad de reactivos intermediarios, como el radical superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ), radical hidroxilo ( $^{\bullet}\text{OH}$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Estos compuestos son llamados especies reactivas del oxígeno (ROS) y pueden iniciar el proceso de peroxidación de las membranas lipídicas que conllevan a la acumulación de peróxidos. Los productos de la peroxidación por ellos mismos, así como los de la oxidación secundaria como el malonaldehído (MDA) y el 4-hidroxinonanal (4-HNE) que son altamente reactivos; pueden reaccionar con sustratos biológicos como las proteínas, aminas y ácido desoxirribonucleico (DNA). Dichos procesos ocasionan una serie de enfermedades degenerativas y contribuyen significativamente al envejecimiento y riesgo de contraer cáncer (Sato y col., 1996 citado por Gamarra, 2003).

Los extractos de vegetales frescos muestran un efecto antioxidante diferente y su actividad depende de la naturaleza y concentración de los antioxidantes naturales presentes en el alimento (Pineda y col., 1999 citado por Gamarra, 2003). La medición de los antioxidantes individuales por separado no permite conocer con certeza la capacidad antioxidante total de un fluido biológico por los efectos sinérgicos que puedan establecerse entre los antioxidantes presentes en él (Pineda y col., 1999 citado por Gamarra, 2003).

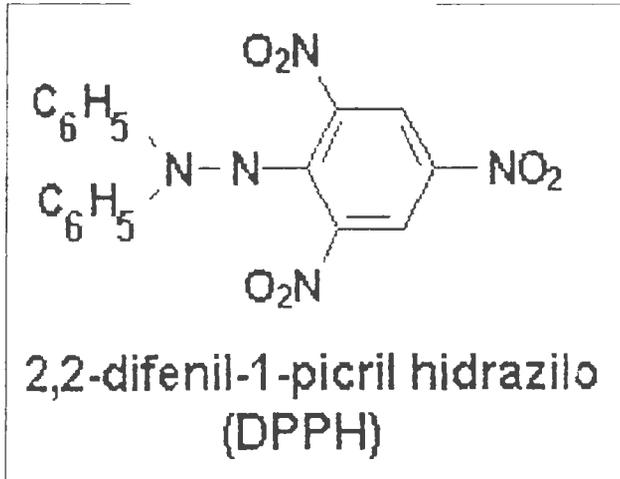
Los compuestos bioactivos, como polifenoles, carotenoides y fitosteroles, que se hallan frecuentemente asociados a los alimentos ricos en fibra, poseen capacidad antioxidante (Saura-Calixto y Jiménez-Escrig, 2001).

La capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuesto estudiado y de su solubilidad en la fase acuosa o lipídica. Además, la gran diversidad de métodos empleados proporcionan resultados numéricos distintos difíciles de comparar. Para solventar este problema en la mayoría de estudios científicos se utiliza el Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como patrón, sustancia que se caracteriza por ser un análogo hidrosoluble de la vitamina E (Martínez-Valverde y col., 2000 citado por Gamarra, 2003).

Para evaluar la actividad antioxidante de los radicales de los compuestos o extractos, estos se hacen reaccionar con el radical estable DPPH (Fig. 3). La reducción del DPPH es entendida por el monitoreo del decrecimiento en su característica longitud de onda durante la reacción. En su forma radical, el DPPH absorbe a 517 nm, pero luego de la reducción por efecto de un antioxidante la absorción desaparece.

Larrauri *et al.* (1996) propusieron medir la capacidad antioxidante para evaluar los efectos potenciales en la salud de una fibra, junto con otros parámetros nutricionales como fermentabilidad e índice de retardo de absorción de glucosa.

**Figura 3. Radical DPPH**



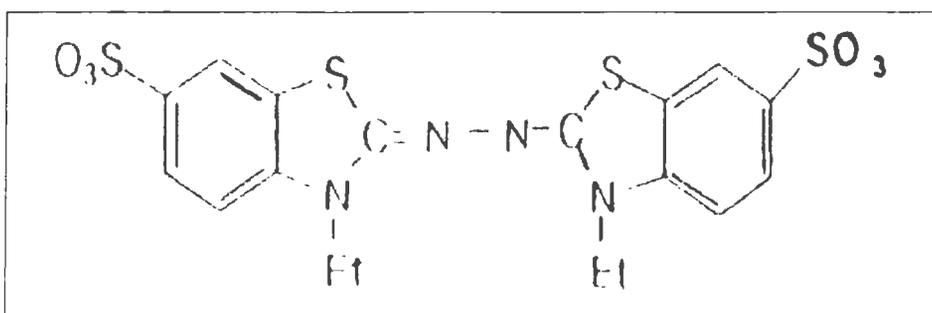
Fuente: Chávez *et al.* (2003)

Diversos métodos de análisis se han propuesto para determinar la capacidad antioxidante, incluyendo medidas de la incorporación de oxígeno, de la formación de dienos conjugados, de la conductividad de los ácidos de cadena corta, de la determinación de peróxidos, del efecto de secuestro de radicales libres, y de los productos finales de oxidación (Saura-Calixto y Jiménez-Escrig, 2001).

La mayor parte de los compuestos antioxidantes de los cereales se hallan en el salvado y el germen, siendo su eficiente extracción importante en la evaluación de la capacidad antioxidante (Miller *et al.*, 2000). Yu *et al.* (2002) evaluaron la capacidad antioxidante de tres variedades de trigo duro, empleando los radicales estables 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•) (Brand-Williams *et al.*, 1995) y 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS<sup>+</sup>•) (Re *et al.*, 1999) para medir el efecto de secuestro de radicales libres, hallando diferencias en las respuestas obtenidas. No observaron correlación entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las muestras.

El radical ABTS (Figura 4) ha sido empleado para monitorear la capacidad antioxidante de los flavonoides y fenólicos debido a sus propiedades como donador de electrones o hidrógenos. El fundamento del método consiste en la generación de un radical cromóforo (ABTS) y la habilidad que tienen los antioxidantes de quelarlo en relación al Trolox. La actividad antioxidante (expresada como equivalente trolox) se define como la concentración de trolox que equivale a una actividad antioxidante de 1mM de concentración de la sustancia analizada (Pellegrini *y col.*, 1998 citado por Gamarra, 2003).

**Figura 4. Radical ABTS**



Fuente: Pellegrini *et al.*

#### 2.3.3.1. Metodología para el análisis de la capacidad antioxidante

Radicales libres tales como triclorometil ( $\text{CCl}_3^\bullet$ ), superóxido ( $\text{O}_2^\bullet$ ), hidroxil ( $\text{HO}^\bullet$ ), peroxil ( $\text{ROO}^\bullet$ ), y óxido nítrico ( $\text{NO}^\bullet$ ) son conocidos por ser producidos metabólicamente en organismos vivos. Además, algunos derivados no-radicales de moléculas de oxígeno (peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), ácido hipocloroso ( $\text{HOCl}$ ), puede ser generado en alimentos y sistemas biológicos. Todos estas especies reactivas participan en la reacción en la cadena de radicales libres, así los métodos utilizados para determinar la capacidad antioxidante están relacionados al tipo de radical libre

que pueden atrapar. Entre estos métodos se encuentran los que utilizan azo-compuestos para la generación de radicales peroxilo, tales como el método del "TRAP" (Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter) o (Parámetro Antioxidante para atrapar Radical Total) y el método "ORAC" (Oxygen-Radical Absorbance Capacity) o (Capacidad de Absorbancia de Radical-Oxígeno); el secuestro de catión radical 2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolino-6-sulfonato) o el ABTS o del "TEAC" (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) o (Capacidad Antioxidante Equivalente Trolox); secuestro del radical estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil o método del DPPH y secuestro del radical catión N,N-dimetil-p-fenilenediamina o método del DMPD (Sánchez-Moreno, 2002).

Desde el punto de vista de la metodología del DPPH, este método es recomendado como fácil y exacto con consideración a medir la actividad antioxidante de jugos o extractos de vegetales y frutas. Los resultados son altamente reproducibles y comparables a otros métodos de secuestro de radicales libres tales como ABTS (Gil *et al.*, 2000 citado por Sánchez-Moreno, 2002). Ambos radicales muestran la misma estequiometría con Trolox: 2 moles de ABTS<sup>•+</sup> (Cano *et al.*, 1998 citado por Sánchez-Moreno, 2002) o 2 moles de radicales de DPPH<sup>•</sup> (Leong and Shui, 2002 citado por Sánchez-Moreno, 2002) son secuestrados por 1 mol del análogo de vitamina E hidrosoluble.

El método del DPPH no es usado para medir la actividad antioxidante del plasma, porque la proteína es precipitada en el medio de reacción alcohólica. Sin embargo el método del DPPH fue usado para la medición de capacidad antioxidante de aceites vegetales y fracciones de aceites según lo reportado por Espin *et al.* (2000). Este ensayo ha sido aplicado a diferentes alimentos procesados, tales como alimentos de granos procesados. (Minamiyama *et al.*, 1994 citado por Sánchez-Moreno, 2002).

En el siguiente Cuadro 23 se muestra la capacidad antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología del ABTS a 734 nm.

**Cuadro 23. Capacidad Antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología ABTS a 734 nm**

Alimento	CA ( $\mu\text{g}$ equivalente Trolox/g, bh)
Arándano <sup>1</sup>	1784
Ciruela <sup>1</sup>	3244
Camote morado <sup>1</sup>	3167
Maíz morado <sup>1</sup>	4720
Fresa <sup>1</sup>	3039.31
Semillas de ayraimo <sup>2</sup>	14051.27
Cáscara de camote morado <sup>3</sup>	7082 - 7810
Genotipo de papa nativa: cáscara y pulpa morada <sup>4</sup>	3780
Genotipo morado ARB-5241 de mashua <sup>5</sup>	9800.43

<sup>1</sup>Cisneros (2001) citado por Ojeda (2003), <sup>2</sup>Gamarra (2003), <sup>3</sup>Ojeda (2003), <sup>4</sup>Segura (2004), <sup>5</sup>Rios (2004).

En el siguiente Cuadro 24 se puede observar la capacidad antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología del DPPH a 515 nm.

**Cuadro 24. Capacidad Antioxidante de algunos alimentos en base húmeda obtenidos por la metodología DPPH a 515 nm**

Alimento	CA ( $\mu\text{g}$ equivalente Trolox/g, bh)
Tunas <sup>1</sup>	4.20 – 5.31
Fresa <sup>2</sup>	15.36
Ciruela <sup>2</sup>	9.49
Uva <sup>2</sup>	7.39
Naranja <sup>2</sup>	7.50
Kiwi <sup>2</sup>	6.02
Plátano <sup>2</sup>	2.21
Tomate <sup>2</sup>	1.89
Te verde <sup>3</sup>	5.2
Aceite de semilla de Uva <sup>3</sup>	2.4
Arándalo <sup>3</sup>	2.7
Avellana de la Bruja <sup>3</sup>	1.7
Propolio EPID <sup>3</sup>	0.9
Ayrampo <sup>4</sup>	26.24
Colorante en polvo de Ayrampo <sup>4</sup>	31.53
Semillas de Ayrampo <sup>5</sup>	6946.01
Cáscara de Manzana Delicia Golden <sup>6</sup>	4.64
Vinos Rojos <sup>7</sup>	3294.4 – 3821.5

<sup>1</sup>Butera *et al.* (2002) citado por Sarmiento (2003), <sup>2</sup>Hong *et al.* (1996) citado por Sarmiento (2003), <sup>3</sup>Pietta *et al.* (1998) citado por Sarmiento (2003), <sup>4</sup>Sarmiento (2003), <sup>5</sup>Gamarra (2003), <sup>6</sup>Chinnici *et al.* (2004), <sup>7</sup>De Beer *et al.* (2003).

En conclusión, podemos decir que en vista de la diversidad de métodos, hay una gran necesidad para estandarizarlos por medición de actividad antioxidante. La composición del sistema, el sustrato oxidable y el método de inducir la oxidación son factores cuando se evalúa un ensayo. De otro lado hay diferentes fuentes de oxidación y tipos de oxidación, por lo tanto, primeramente, podríamos definir blancos de oxidación (lípidos, proteínas o DNA) antes seleccionando un método para evaluar la actividad antioxidante. La búsqueda de ensayos más específicos que nos dan información química, los cuales podrían ser relacionados directamente a deterioración

oxidativa de alimentos y sistemas biológicos, podría ser el objetivo de investigaciones futuras (Sánchez-Moreno, 2002).

Pellegrini *et al.*, en un estudio realizado en extractos de frutas concluyeron que la decolorización del catión radical ABTS es un ensayo eficiente y exacto para determinar la actividad antioxidante de sustancias lipofílicas y extractos alimenticios.

Aguilar (2002), determinó la capacidad antioxidante por el método de Brand-Williams *et al.* (1995) donde los compuestos con actividad antioxidante reaccionan con el radical estable 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH•) en una solución de metanol.

La reducción del DPPH• (ver reacción abajo) es seguida por monitoreo de la disminución de la absorbancia en la longitud de onda característica durante la reacción. El radical en forma de DPPH• absorbe a 515 nm y por reducción con un antioxidante (AH) o una especie radical (R•) disminuye la absorbancia. La reacción es la siguiente:



#### **2.4. Efecto de algunos tratamientos sobre los compuestos antioxidantes**

Las frutas y vegetales después de ser procesados sufren cambios físicos y químicos, que podrían afectar el contenido de sus fitonutrientes y sus antioxidantes, generalmente son consumidos después de una cocción, varias son las formas de procesamiento con fines de comercialización entre ellos, deshidratados y congelados (Howard *et al.*, 1997 citado por Dávila, 2003).

Erdman y Klein (1982) citados por Dávila (2003) indican que la deshidratación y cocción alteran considerablemente la estabilidad del ascorbato, tocoferoles y carotenoides, otros tratamientos como la luz ultravioleta, el aire, calor y condiciones medio ambientales tiene el mismo efecto.

El ácido ascórbico es sensible al efecto del procesamiento, porque es soluble en agua y es fácilmente oxidado, especialmente a pH neutro en soluciones acuosas, muchas investigaciones han demostrado que durante la precocción: la cantidad de agua, tipo de calor aplicado y el tiempo de cocción, es importante para controlar la estabilidad de la Vitamina C (Gregory, 1996 citado por Dávila, 2003).

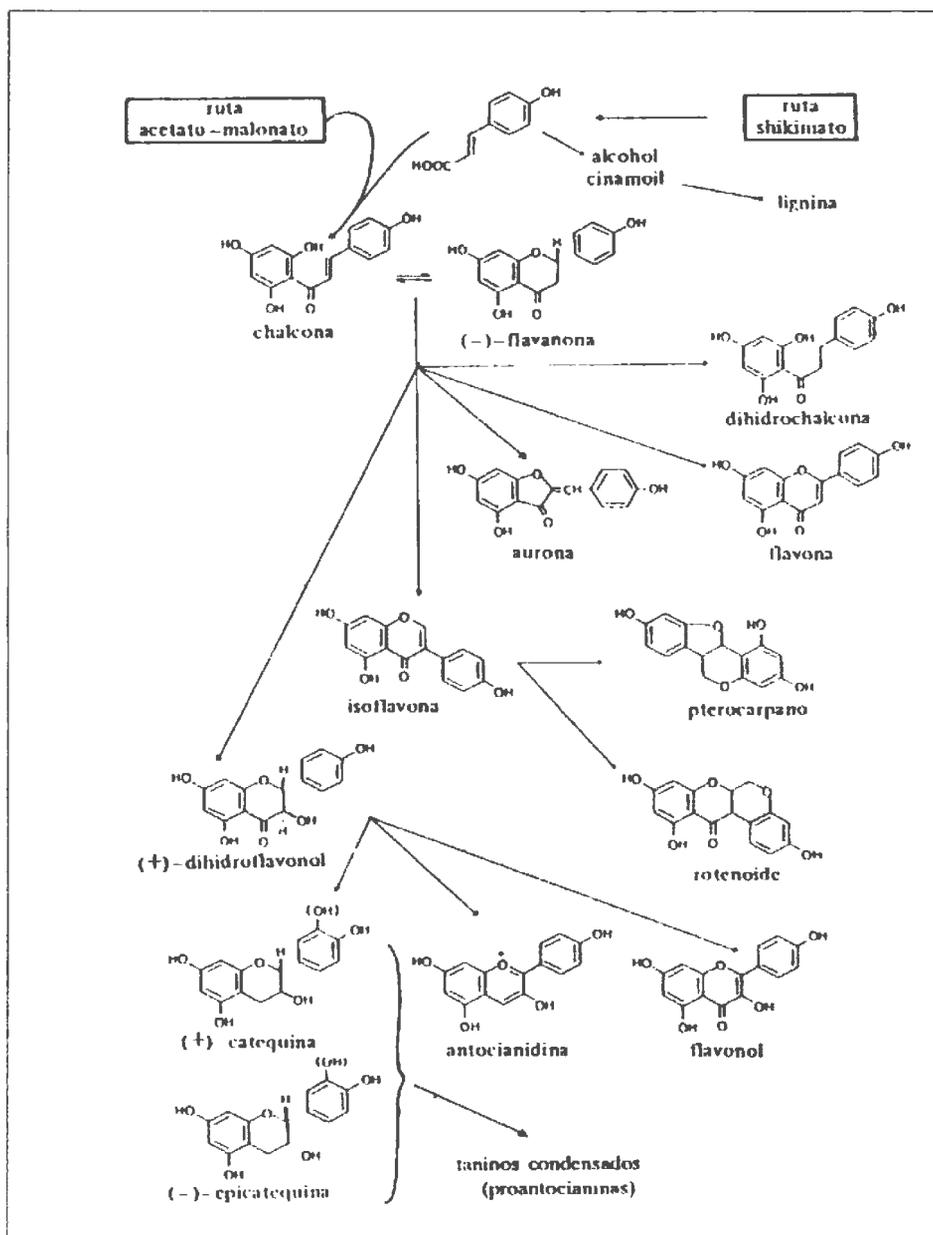
## **2.5. Compuestos Fenólicos**

### **2.5.1. Generalidades**

Los fenólicos son mayormente sintetizados desde la vía de fenilalanina amonía liasa (PAL) y formación de ácido cinámico y posteriores derivados. Hay evidencia que una mejor ruta para ácido gálico viene directamente desde la ruta del ácido shikímico, previo a la fenilalanina (Parr and Bolwell, 2000).

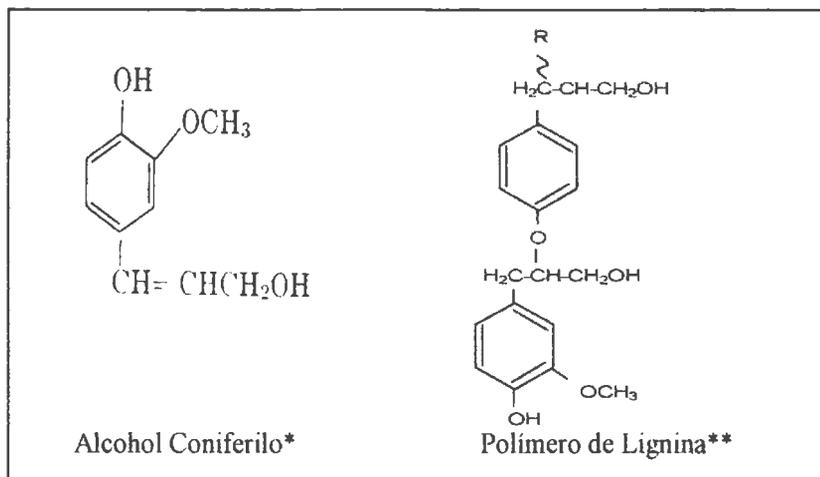
Además uno de los compuestos formados mediante la ruta del ácido shikímico es los polímeros de lignina (Fennema, 2000), como se muestra en la Figura 5. La estructura de la lignina es desconocida, pero se cree que los p-hidroxifenilpropanos derivados del alcohol coniferilo (Fig. 6) o algún compuesto muy afín son las unidades de repetición fundamentales; los grupos metoxi generalmente están en posición orto respecto al hidroxilo fenólico. (Fruton & Simmonds, 1961).

Figura 5. Ruta biogénica para los flavonoides



Fuente: Lock (1994)

**Figura 6. Compuestos de los cuales deriva la lignina**



Fuente: \* Fruton & Simmonds (1961), \*\* Fennema (2000).

Según Lock (1994), los flavonoides se forman biogénicamente a través de la ruta del shikimato y del acetato malonato (Fig. 5), siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado, y a partir de la cual se derivan las otras clases por posteriores modificaciones que ocurren en varias etapas. Así mismo, cada una de estas clases puede sufrir posteriores mutilaciones, isoprenilaciones o glicosidaciones de los grupos hidroxilos, metilaciones de grupos o-hidroxilos, dimerizaciones, etc.

Los fenoles son compuestos químicos que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos. Su forma más frecuente es la de polímeros o lignina insoluble, mientras que su presencia en los tejidos animales está relacionada con el consumo e ingestión de alimentos vegetales. La distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuestos químico que se trate, situándose en el interior de las células o en la pared celular (Ojeda, 2003).

Los compuestos fenólicos poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que ocurren frecuentemente como glicósidos, combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua; pueden ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro, que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica al 1% de cloruro férrico. Dada la naturaleza aromática de estos compuestos fenólicos, ellos muestran intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo. Asimismo, muestran desplazamiento batocrómico característico en presencia de álcalis (Lock, 1994 citado por Gamarra, 2003).

Los fenoles protegen a las plantas contra los daños oxidativos y llevan a cabo la misma función en el organismo humano, actúa como metabolito esencial para el crecimiento y reproducción de las plantas, dar pigmentación a las flores y frutos y favorecer la producción nodular. Además actúan como agentes protectores frente a la acción de patógenos, radiación UV y enfermedades, siendo secretados en estos casos como mecanismos de defensa (Burns *et al.*, 2001 citado por Segura, 2004).

La característica principal de los compuestos fenólicos es su habilidad para bloquear la acción de enzimas específicas que causan inflamación en las plantas. Los fenoles también modifican los pasos metabólicos de las prostanglandinas y por lo tanto protegen la aglomeración de plaquetas. En base a los datos obtenidos de estudios experimentales, parece que existen algunos posibles mecanismos para la acción de los fenoles. Estos inhiben la activación de carcinógenos y por lo tanto bloquean la iniciación del proceso de carcinogénesis. Los fenoles son también antioxidantes como tales atrapan radicales libres, previniendo que estos se unan y dañen las moléculas de ácido deoxirribonucleico (DNA), un paso crítico en la iniciación de los procesos carcinogénicos. Como antioxidantes, los fenoles también previenen la peroxidación

de lípidos, los cuales, siendo radicales libres pueden causar daño estructural a las células normales (Vasconcello, 2000 citado por Gamarra, 2003).

Los compuestos aromáticos naturales incluyen derivados simples de benceno, anillos bencénicos condensados, monómeros, dímeros o polímeros de alto peso molecular como lo son la lignina y los taninos. Generalmente presentan grupos oxigenados mayormente fenoles. Biogenéticamente derivan del ácido shikímico y varios tienen origen mixto vías acetato-shikímico (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003).

Como ejemplo en el reino animal podemos citar el p-cresol, una secreción de defensa de algunos insectos; la luciferina, responsable de la bioluminiscencia de las luciérnagas. Es un compuesto fenólico azufrado, que debe oxidarse enzimáticamente para su luminiscencia (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003).

Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados. Su contribución a la pigmentación de los alimentos vegetales está claramente reconocida, a través de las antocianidinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos. Además la reacción de oxidación de los compuestos fenólicos hacia la formación de quinonas, catalizadas por las enzimas polifenol oxidasas, produce un pardamiento enzimático en los alimentos, fenómeno de vital importancia para asegurar la calidad de frutas y verduras durante el procesado.

También se les asocia con la astringencia que presentan muchas frutas comestibles antes de la maduración (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Ojeda, 2003). En el Cuadro 25 se puede observar el contenido de compuestos fenólicos en algunos vegetales expresados en ácido clorogénico.

**Cuadro 25. Contenido de compuestos fenólicos totales (mg ác. clorogénico/100g. bh) en algunos vegetales**

Vegetal	Fenólicos Totales (mg ác. Clorogénico/100g. bh)
Brócoli	83.1
Zanahoria	40.2
Coliflor	35
Papas amarilla liofilizadas	38.3
Papas moradas liofilizadas	41.8
Cebolla	66.8
Lechuga-hoja roja	182
Lechuga-corazón	24.4
Tomate	28.8
*Soja	10-300
*Amaranto	200-400
*Quinoa	200

Fuente: Lister y Podivinsky (1998) \* Mazza (2000) no especifica referido a que ácido, ni en que base húmeda o seca.

Y en el siguiente Cuadro 26 se muestra el contenido de fenólicos totales en algunos cereales y vegetales expresados en ácido gálico.

**Cuadro 26. Contenido de fenólicos totales (g de ác. gálico equiv/100 g peso seco) en algunos cereales y vegetales**

Alimentos	Nombre científico	Fenólicos totales (g de ác. gálico equiv/ 100 g peso seco)
<b>Cereales</b>		
Grano de avena	<i>Avena sativa</i>	0.03
salvado de avena	<i>Avena sativa</i>	0.04
Hojuelas de avena	<i>Avena sativa</i>	0.03
Salvado de centeno	<i>Secale cereale</i>	0.13
Harina de centeno	<i>Secale cereale</i>	0.05
Salvado de trigo	<i>Triticum aestivum</i>	0.1
Grano de trigo	<i>Triticum aestivum</i>	0.02
Cebada perlada	<i>Hordeum sativum</i>	0.03
Grano de cebada	<i>Hordeum sativum</i>	0.04
<b>Vegetales</b>		
Cáscara de beterraga	<i>Beta vulgaris</i>	0.43
Hoja de pepino	<i>Cucumber sativus</i>	0.38
Pulpa de zanahoria	<i>Daucus carota</i>	0.06
Hoja de zanahoria	<i>Daucus carota</i>	0.74
Cáscara de zanahoria	<i>Daucus carota</i>	0.66
Arverja	<i>Pisum sativum</i>	0.04
Cáscara de papa	<i>Solanum tuberosum</i>	0.43
Cáscara de remolacha	<i>Beta vulgaris altissima</i>	0.42

Fuente: Kähkönen *et al.* (1999)

Otras investigaciones del contenido de fenólicos totales en algunos vegetales y frutas expresados en ácido clorogénico se observan en el Cuadro 27.

**Cuadro 27. Contenido de fenólicos totales (mg ac. Clorogénico/100 g , bh) de algunos vegetales y frutas**

Alimento	Fenólicos Totales (mg ac. Clorogénico/100 g , bh)
Arándano <sup>1</sup>	574
Camote morado <sup>1</sup>	945
Maíz morado <sup>1</sup>	1756
Cáscara de 3 variedades de camote morado <sup>2</sup>	1099-1247
Borra de hoja de coca <sup>3</sup>	234
Fresa <sup>4</sup>	339.45
10 genotipos de mashua <sup>4</sup>	91.60 – 331.48
Semillas de ayrampo <sup>5</sup>	1695.51

<sup>1</sup>Cevallos-Cassals y Cisneros-Zevallos (2003) citado por Segura (2004), <sup>2</sup>Ojeda (2003), <sup>3</sup>Documet (2004), <sup>4</sup>Ríos (2004), <sup>5</sup>Gamarra (2003).

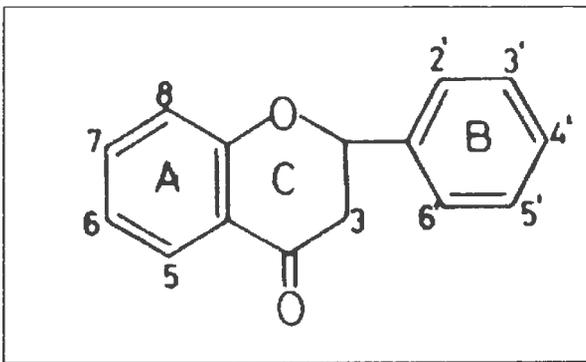
Pekkarinen *et al.*, (1999) evaluaron la capacidad antioxidante en metil lineolato, encontraron que todos los flavonoides estudiados (quercetin, myricetin, kaemferol y (+)-catechin) inhibieron la formación de hidroperóxidos en el metil lineolato en el siguiente orden: myricetin> quercetin>kaemferol y además el myricetin y el quercetin fueron ligeramente más efectivos en inhibir los hidroperóxidos que el  $\alpha$ -tocoferol. Concluyendo que la actividad antioxidante de los flavonoides se incrementó cuando el número de grupos hidroxilos fenólicos en el anillo B es incrementado. Por lo tanto la estructura química de los flavonoides influye en su capacidad antioxidante.

Según Parr y Bolwell (2000) señalan que en los cereales se pueden encontrar ácido ferúlico y lignanos, además dicen que la nutrición mineral puede tener un mayor efecto en la acumulación de fenólicos, así la menor cantidad de Nitrógeno y Boro aumentaría los niveles de fenólicos, donde hay déficit de agua tiende a disminuir la acumulación de fenólicos, pero mucha agua tiende a aumentar los flavonoides, además la luz favorecería el incremento de fenólicos.

### 2.5.2. Estructura química y clasificación

Las sustancias fenólicas o polifenoles constituyen un grupo muy numeroso de sustancias que incluyen familias de compuestos con estructuras diversas. Los flavonoides con estructura básica C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> (Fig. 7), en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C (Lock, 1994).

**Figura 7. Núcleo básico de un flavonoide**

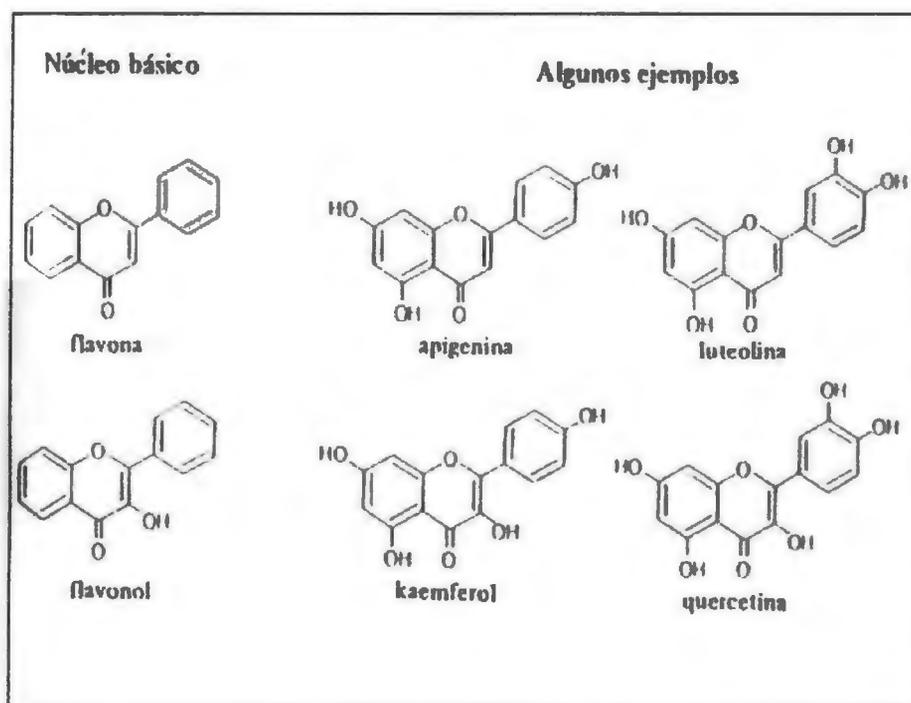


Fuente: Lock (1994)

En la Fig. 8, se puede observar ejemplos típicos para cada clase de flavonoides. Incluyen antocianinas, flavonoles y flavonas, flavanonas, chalconas y

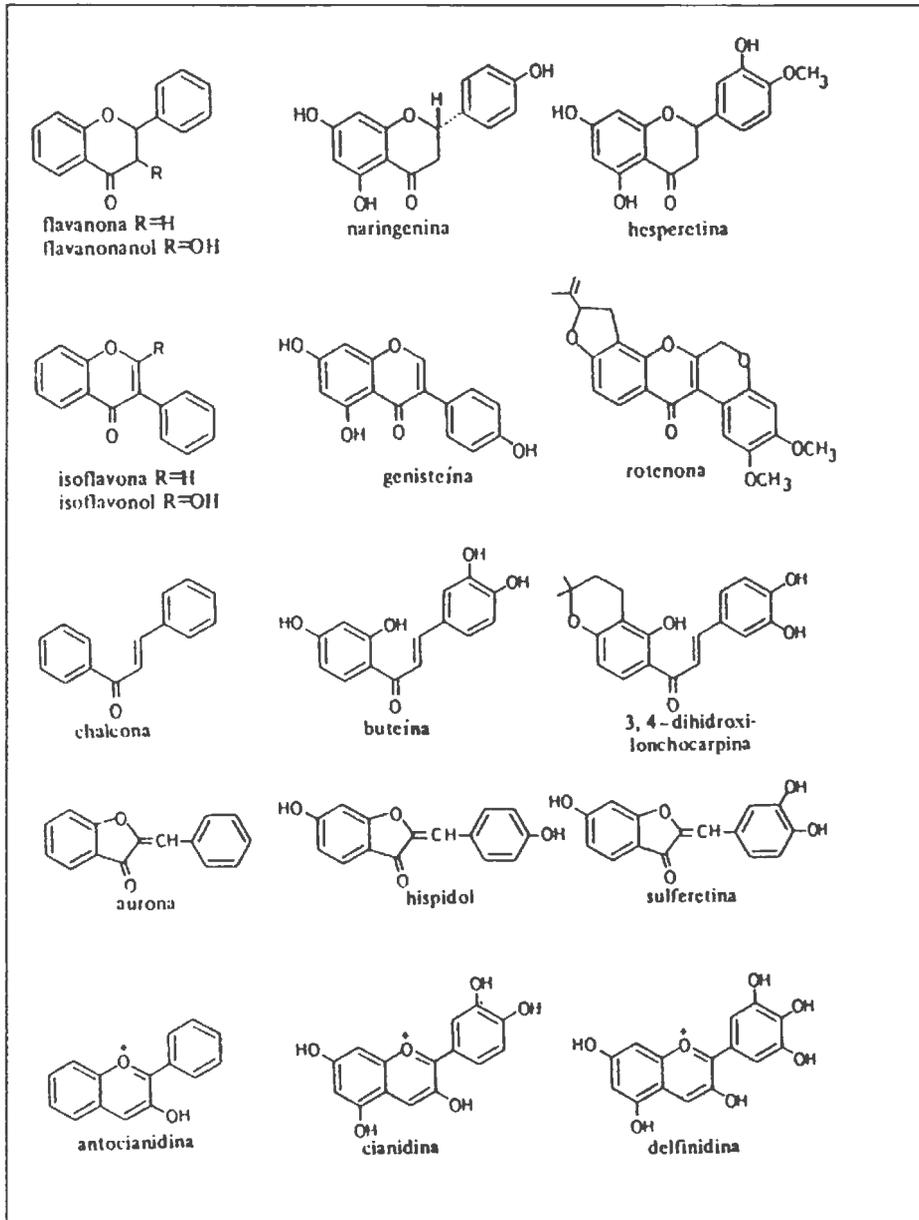
dihidroxichalconas, isoflavonas, flavan-3-oles. Otro subgrupo incluyen los derivados del ácido hidroxicinámicos (cafeico, ferúlico, sináptico, p-cumárico), también tienen importancia los estilbenoides (resveratrol) y los derivados del benzoico (ácido gálico, elágico, etc) (Tomas, 2003).

**Figura 8. Clases de flavonoides: núcleo básico y ejemplos**



Continúa...

..Continuación



Fuente: Lock (1994)

Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, un anillo benceno, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glicósidos, etc). La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Se presentan en las plantas en forma conjugada con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilos, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático. Por ello la forma más común de encontrarlos en la naturaleza es en forma de glicósidos, siendo solubles en agua y solventes orgánicos. Los azúcares asociados a los polifenoles pueden ser monosacáridos, disacáridos o incluso oligosacáridos. Los compuestos a los que se encuentran unidos con más frecuencia son: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa y ácidos glucorónicos y galacturónico. También pueden encontrarse unidos a ácidos carboxílicos, ácidos orgánicos, aminas, lípidos y a otros compuestos fenólicos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Ojeda, 2003).

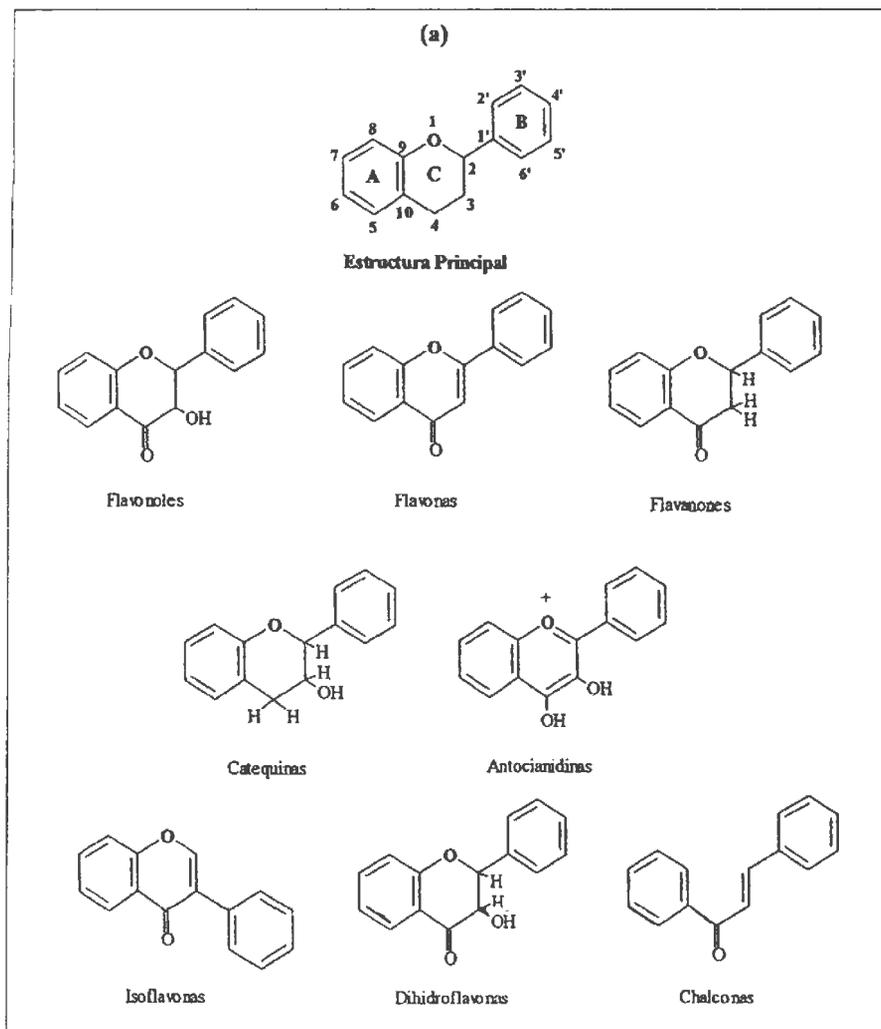
Una clasificación de los compuestos fenólicos fundamentada en su estructura química se presenta en el Cuadro 28 y en la Figura 9.

**Cuadro 28. Clasificación de los compuestos fenólicos**

Compuestos flavonoides	Compuestos no flavonoides
Flavonoles	Ácidos fenólicos
Flavanoles	-Ácidos benzoicos
-Taninos o proantocianidinas	-Ácidos cinámicos
Antocianidinas y antocianatos	Estilbenos
	-Resveratrol

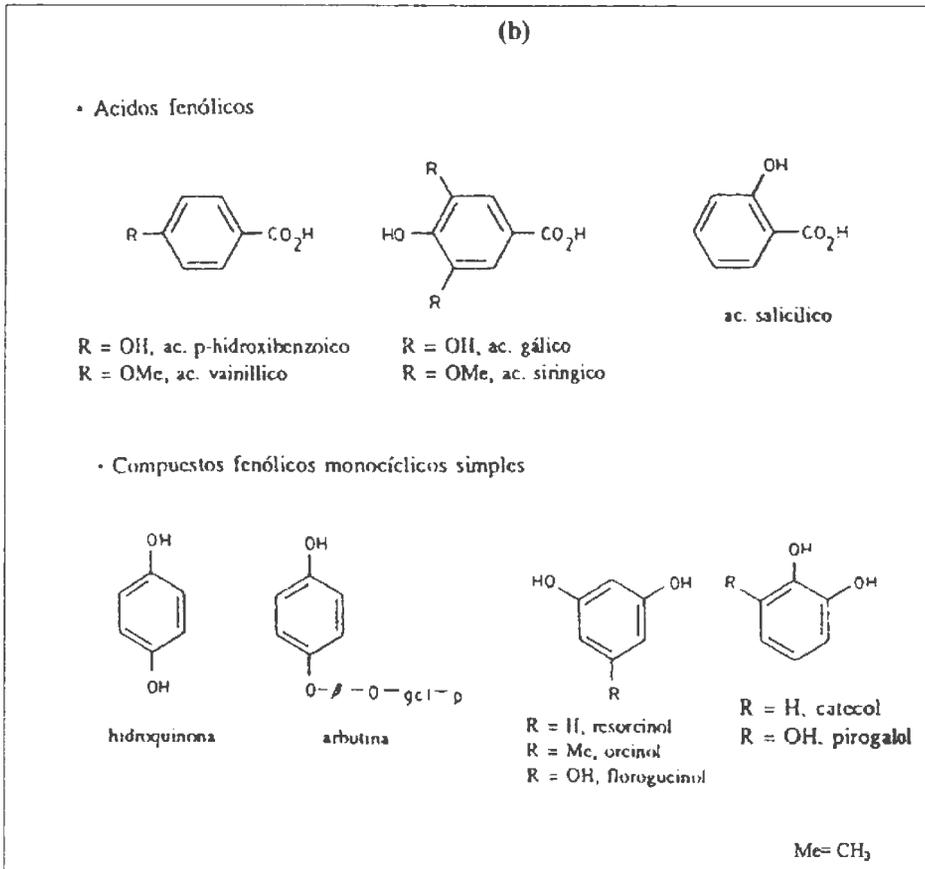
Fuente: Valls *et al.* (2000) citado por Rios (2004)

Figura 9. Algunos compuestos flavonoides (a) y no flavonoides (b)



Continúa...

... Continuación



Fuente: Segura (2004)

En función a su estructura química, estos compuestos se pueden subdividir en flavonoides o no flavonoides, según sean o no derivados de la estructura básica de fluoroglicinol, caracterizada por un esqueleto de dos anillos bencénicos unidos por una cadena de tres átomos de carbono en un heterociclo oxigenado (Valls *et al.*, 2000 citado por Rios, 2004). El término polifenoles incluyen también a los derivados (ésteres, éteres metílicos, glicósidos, etc) resultantes de las sustituciones en la estructura básica (Abril y Casp, 1999 citado por Segura, 2004).

Los **flavonoides** son en gran mayoría sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona heterocíclico ( $C_6C_3C_6$ ) (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Segura, 2004). Los flavonoides se clasifican a partir de sus variaciones estructurales. Dentro del grupo de los flavonoides propiamente dicho, lo más destacable por su interés farmacológico son las flavonas, flavonoles, flavanonas, y sus correspondientes heterósitos, isoflavonoides son importantes por su efecto estrogénico. Aquellos que carecen del carbonilo en la posición 4, como son las antocianinas, catequinas, y las leucoantocianos (López, 2002).

La familia incluye flavanolas, flavanonas, antocianidinas, flaonas y flavonoles monoméricas. Las diferencias individuales de cada grupo resultan de la variación en el número y el arreglo de los grupos hidroxilo así como de la naturaleza de la magnitud de la alquilación o glicosilación de dichos grupos. Las flavanonas y flaonas se encuentran generalmente juntas conectadas por enzimas específicas y poseen dihidroxilaciones en las posiciones 3' y 4' del anillo B y en menor proporción una sola hidroxilación en la posición 4' del anillo B (Rice-Evans *et al.*,

Los flavonoides se encuentran sobre todo en los órganos aéreos amarillos (hojas y botones florales) localizados en tejidos superficiales. Están disueltos como glicósidos en el jugo vacuolar, cloroplastos y membranas. La luz no es esencial para su formación, pero incluye cuantitativamente. La intensidad de color amarillo aumenta con el aumento del pH, es decir de ser incoloros o blancos a pH ácido, pasan a ser fuertemente amarillos a pH básicos (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003).

Los flavonoides se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. Entre otras aplicaciones, se

tiene la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorantes, y la rotenona como insecticida, etc. (Lock, 1994).

La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades contra la fragilidad capilar (bioflavonoides del género *Citrus*: rutina y derivados), dilatadores de las coronarias (proantocianidinas de *Crataegus*, *Árnica* y *Gingko*), espasmolítica (glicósidos de apigenina), antihepatotóxica (silimarina de *Silybum*), colerética, estrógena y diurética. Se destaca también la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y la acción fungitóxicas de isoflavonas, como las de algunas especies de *Lupinus* (Lock, 1994).

El grupo de los flavonoides es conocido por sus efectos antiinflamatorios y antialérgicos, por sus propiedades antitrombóticas y vaso protectoras, por la inhibición de la promoción de tumores y como protectores de la mucosa gástrica. Estos efectos se han atribuido a su influencia sobre el metabolismo del ácido Araquidónico. Los flavonoides también poseen actividad antioxidante, aplicaciones como colorantes naturales y poseen propiedades antibacterianas y antifúngicas. En los vegetales intervienen en los fenómenos de oxidación-reducción, protegen a otros pigmentos de la luz y de la radiación UV, presentan actividad fungicida y contra parásitos agresores, ayudan en la polinización, ya que por sus colores atraen a los insectos junto con los aceites esenciales (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003).

En un estudio realizado en los Países Bajos se ha estimado que la ingesta diaria de flavonoides es de 23 mg las principales fuentes de éstos compuestos fueron el té, las aceitunas y las manzanas. La cantidad de flavonoides que se consumen varía de unos países a otros, en función de los alimentos que habitualmente se consumen (King y Youn, 1999 citado por Temoche, 2003).

Los **isoflavonoides** están distribuidos en pocas familias, principalmente en las Leguminosas. Estructuralmente se los puede dividir en varias clases, correspondientes éstas a los flavonoides respectivos: isoflavonas, isoflavonoles, rotenoides, etc. (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003).

Los compuestos fenólicos **no flavonoides** incluyen a los ácidos fenólicos los cuales se dividen en ácidos benzoicos ( $C_6-C_1$ ) y ácidos cinámicos (hidroxicinámicos) que llevan una cadena lateral insaturada ( $C_6-C_3$ ). Esta clasificación también se aplica a otros derivados fenólicos como los estilbenos ( $C_6C_2C_6$ ), los compuestos fenólicos simples (estructura  $C_6$ ), algunos ejemplos de estos compuestos son: la vainillina y la vainilla de la vainilla, la salicina del sauce de donde también se extraen taninos, los cápsicos del pimiento rojo (cinameína), cinamato de cinamoilo (estiracina) y benzoato de bencilo, restos de ác. Cinámico y vainillina libre, lo que le da su aroma característico al bálsamo del Perú (Hosegawa, 2001 citado por Temoche, 2003); y los taninos (con gran número de hidroxilos y capaces de unirse a proteínas y otras moléculas) dentro de los cuales se tienen los taninos hidrolizables y no hidrolizables (condensados) también llamados proantocianidinas (Abril y Casp, 1999 citados por Segura, 2004).

Si se tienen en cuenta los flavonoides, los ácidos fenólicos y los polifenoles, la ingesta de fenoles puede ser bastante elevada (más de 100 mg al día), sobre todo en los países donde se consumen vino tinto y productos elaborados con soja (King y Youn, 1999 citado por Temoche, 2003).

Según Martínez-Valverde *et al.* (2000) citado por Gamarra (2003), los compuestos fenólicos se puede agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química básica, describiéndose a continuación aquellas con un mayor interés nutricional:

**a) Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos acéticos**

Dentro de este grupo los fenoles se encuentran el fenol, cresol, timol y resorcinol distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillico, p-hidroxibenzoico, y los aldehidos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Por el contrario existe poca información en la literatura científica sobre los ácidos fenilacéticos en los vegetales.

**b) Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles**

Los ácidos cinámicos (cafeico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se hayan presentes en forma de derivados, así por ejemplo, el ácido cafeico se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido, mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio.

**c) Lignanos y neolignanos**

Son metabolitos de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de p-hidroxifenilpropano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno. Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno. El término lignano se aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, mientras que cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano.

**d) Flavonoides**

Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos, siendo los

polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanoles, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalconas, antocianidinas, leucoantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos la flavonas ( por ejemplo apigenina, luteolina y diosmetina) Las hojas de *Ginkgo biloba* también contienen flavonas como la luteolina, ginkgetina, isoginkgetina, etc. los flavanoles (por ejemplo: quercetina, mirecítina y kapferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en los vegetales. Los flavonoles más destacables son la rutina y la silimarina. La rutina es un ramnoglucosido de la quercetina que presenta una acción venotónica, antiespasmódica, antihemorrágica, hepatoprotectora, antioxidante, inhibe la peroxidación lípica y antirreumática. Se pueden obtener a partir de diferentes drogas como hojas, flores de *Fagopyrum esculentum*, *Sophora japónica*, *Eucalyptus macrorrhyncha*, *Silybum marianum*. El uso de Cardo mariano está indicado en caso de hepatitis, cirrosis y trastornos hepáticos. Algunos compuestos del grupo de las flavanonas mas importantes son la hesperetín-7-hesperidósido, hesperetín-7-neohesperidósido, naringetín-7-neohesperidósido, citroflavonoides, en algunas raíces y rizomas del (*Glycyrrhiza glabra*, *Citrus sp* )

Algunos isoflavonoides son considerados como fitoestrógenos. Los más importantes son la genisteína (5,7,4'-trihidroxiisoflavona) y la daidzeína (7,4'-dihidroxiisoflavona), ambos procedentes de semilla de soya.

Además de su acción estrogénica, leve, las isoflavonas poseen actividad antiviral, anticarcinogénica, bactericida y antimicótica.

Los antocianósidos son heterósidos (también denominados antocianinas) cuyas agliconas (antocianidinas o antocianidoles) derivan del ión flavilo (2-fenil benzopirilio).

Son pigmentos que confieren las coloraciones rojas, azules, y violetas, a numerosas flores, frutos, hojas y semillas.

Entre las drogas que contienen antocianócidos cabe citar al *Ribes nigrum*, *Vaccinium myrtillus*, cuyos frutos contienen derivados del delfinidol y del cianidol.

#### e) **Taninos**

Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 y 3000 Daltons. Estos compuestos contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales (1 a 2 por cada 100 Daltons), siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas (Gamarra, 2003).

Los taninos pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables y no hidrolizables o condensados. Los taninos condensados tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa, y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente bien con el ácido gálico o bien con el ácido hexahidroxidifénico, formando los galotaninos y elagitaninos respectivamente. Tras la hidrólisis con ácido, bases o ciertas enzimas, los galotaninos dan glucosa y ácido gálico (Gamarra, 2003).

### **2.5.3. Función Antioxidante**

Los compuestos fenólicos son biológicamente activos, son antioxidantes y pueden poseer propiedades preventivas de enfermedades. Los beneficios de estas sustancias

sobre la salud se han recogido en la prensa popular (“Uvas contra el cáncer”; “Repollo: enemigo del cáncer”; “El café, un vicio sano”; “Cebolla: el guardián del corazón”; etc.). Aunque su capacidad para prevenir cánceres y enfermedades cardíacas, aún está en estudio (Arroyo y Roncadio, 2001 citado por Temoche, 2003).

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece estar relacionado con su capacidad para quelar metales, inhibir la lipoxigenasa y captar radicales libres, aunque en ocasiones puede también promover reacciones de oxidación “*m vitro*” (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Ojeda, 2003).

Se ha reportado que compuestos fenólicos como el ácido ferúlico pueden reducir el riesgo de enfermedades degenerativas del corazón y ojos. Por su parte, los flavonoides pueden reducir el riesgo de cáncer por su acción neutralizadora de radicales libres (Consejo Latinoamericano de Información Alimentaria, 2001 citado por Segura, 2004).

La reactividad de este tipo de moléculas se debe por una parte a la presencia del grupo fenol, que por la movilidad de su átomo de hidrógeno presenta un carácter ácido, y por otra al anillo bencénico que puede sufrir sustituciones electrofílicas debido a una deslocalización de sus electrones (Cadenas, 2001 citado por Segura, 2004).

La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos depende del grado de glicosilación que tengan y es debida principalmente a su potencial para quelar metales y a sus propiedades redox, que les permiten actuar como agentes reductores, donadores de hidrógeno y absorbedores de energía del oxígeno singlet. No obstante, algunas veces se pueden comportar como prooxidantes, debido a la falta de estabilidad que pueda tener el radical formado (aroxilo) luego de su acción como “atrapadores de radicales” (rice-Evans *et al.*, 1995 citado por Segura, 2004). Su

actividad biológica también estaría relacionada a su potencial de autooxidación y a su capacidad de modular las actividades de ciertas enzimas celulares (Robards *et al.*, 1999 citado por Segura, 2004).

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir con dos condiciones básicas, la primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, hacer más lenta o prevenir la autooxidación o la oxidación medida por un radical libre y la segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenolíticos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (principalmente hidroxicinámico, hidroxibenzóico, caféico y clorogénico), taninos (alliginatos), calconas y cumarinas, los cuales constituyen la fracción polifenólica de una gran diversidad de alimentos (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Ojeda, 2003).

La capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y en su solubilidad en fase acuosa o lipídica. Asimismo, la gran diversidad de métodos empleados proporcionan resultados numéricos distintos difíciles de comparar. Para solventar este problema en la mayoría de los estudios científicos en los que se valora la actividad antioxidante bien de compuestos puros, bien de extractos vegetales, se utiliza el Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico) como patrón, sustancia que se caracteriza por ser un análogo hidrosoluble de la vitamina E (Martínez-Valverde *et al.*, 2000 citado por Ojeda, 2003).

Rice- Evans *et al.* (1996) citado por Ojeda (2003) indican que existen tres criterios para una efectiva capacidad antioxidante de los flavonoides:

de estas membranas afectando al crecimiento y proliferación celular (Vasconcellos, 2001 citado por Temoche, 2003).

Asimismo, Arnao (2000) citado por Temoche (2003) asegura que los métodos más ampliamente usados, para medir la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos, son el ABTS y el DPPH, por su facilidad, rapidez y sensibilidad. Ambos métodos emplean un radical de naturaleza cromógeno que simula especies reactivas de oxígeno y nitrógeno, y desaparecen ante la presencia de un antioxidante. Además menciona que, a pesar de presentar una excelente estabilidad, bajo ciertas condiciones de ensayo, muestran también varias diferencias importantes en su manipulación y en los resultados de los antioxidantes cuantificados.

Estos métodos de inhibición se han desarrollado para determinar la capacidad antioxidante de fluidos, donde se usa una especie generadora de radicales libres y una sustancia que detecta las especies. La actividad antioxidante de la muestra añadida inhibe la generación de estos radicales (Pineda *et al.*, 1999 citado por Temoche, 2003).

Lo primero que se debe mencionar es el modo de acción de estos reactivos. El DPPH es un radical libre estable, en cambio el ABTS tiene que ser preformado con el persulfato de potasio para llegar a su forma  $ABTS^{2+}$ , y convertirse en un radical libre estable. Sugihara (1999) citado por Temoche (2003), menciona que, ambos radicales actúan químicamente en forma similar ya que lo que provocan es una reducción del material antioxidante. Es decir el compuesto antioxidante reduce al agente oxidante donándole un  $H^+$ .

Leong *et al.* (2001) citado por Temoche (2003) afirma que el  $ABTS^+$ , generado por el persulfato de potasio, es presentado como una excelente herramienta para medir la capacidad antioxidante de los antioxidantes donadores de hidrógeno (radicales

atrapadores en fase acuosa ) y antioxidantes rompedores de cadena (atrapadores de radicales lípido peroxil).

#### **2.5.4. Acciones farmacológicas de los flavonoides**

Según Muñoz (2005), en su relación con el hombre, estas sustancias presentan una serie de actividades farmacológicas, dependiendo de ciertas características de su molécula, entre los que destacan:

- Conducen a una disminución de la fragilidad capilar y previene la formación de varicosidades mejorando la circulación periférica.
- También favorecen la solubilidad y estabilidad así como la formación de muchos precursores de enlaces entre las fibrillas. Lo que explica la fortificación del tejido conectivo.
- Previene la formación de placas de ateroma, siendo beneficiosos en la prevención de la aterosclerosis y el infarto del miocardio.
- Activación de la hidroxilación del  $\alpha$  benzo pireno en los meciosomas hepáticos, por la  $\alpha$  benzo pireno hidroxilasa inducida por flavonoides, que conducen a la metabolización de las sustancias cancerígenas, que de otra forma sería difícil eliminar, acumulándose en los pulmones produciendo el edema pulmonar.
- Acción estrogénica esta catalizada exclusivamente en el grupo de las isoflavonas, que presentan una actividad y estructura similar al estibestrol.
- Los flavonoides como constituyentes de los alimentos, también tienen su importancia al contribuir a determinadas propiedades de estos, como son el color (pigmentos antocianos), sabor amargo de determinadas flavanonas y dulce de determinadas dihidrochalconas) y la astringencia (de los taninos catequínicos).

- Contribuyen a la estabilidad de los alimentos por sus propiedades inhibidoras de enzimas responsables del ablandamiento de algunos vegetales, y por su actividad antioxidante.

### 2.5.5. Metodología para el análisis de compuestos fenólicos

El contenido total de compuestos fenólicos en *Amaranthus paniculatus* y *Amaranthus caudatus* fue de  $56.22 \pm 0.8$  y  $39.7 \pm 0.9$  mg/ 100 g de semillas, respectivamente. La concentración de los compuestos fenólicos totales en ambas especies de amaranto analizadas es mas baja que en otros vegetales y frutas, pero esto puede ser comparado con el contenido fenólico total en otros cereales. En general, fueron observadas diferencias significativas en los perfiles de los ácidos fenólicos en ambas especies de amaranto (Klimczak *et al.* 2002).

El ácido protocatequico fue el único predominante y cubrió el 34% de la suma de los ácidos fenólicos en *Amaranthus paniculatus*, el ácido cafeico fue el principal componente de los ácidos fenólicos en *Amaranthus caudatus* (52%). El ácido gálico y el sinápico fueron solo observados en *Amaranthus paniculatus*. Los ácidos fenólicos tal como el ferúlico, cafeico, p-hidroxibenzoico, p-cumárico, protocatequico, vainílico y el ácido siringico han sido encontrados en otros cereales (Klimczak *et al.* 2002).

El ácido ferúlico constituye mas del 90% de los ácidos fenólicos de granos de trigo durum y harina (Klimczak *et al.* 2002).

El ácido ferúlico, vainílico y p-cumárico, aparecen en las mas altas cifras en el salvado de trigo durum. En la cebada ambos ácidos ferúlico y p-cumárico son los predominantes. El contenido de ácidos fenólicos libres en las muestras analizadas

cubrió cerca del 53% del total de los compuestos fenólicos en *A. p* mientras que 27% en *A.c*. Por consiguiente, la actividad antioxidante observada de las semillas de amaranto puede ser a cuenta de la aparición de los ácidos fenólicos libres.

Los análisis fomentados de compuestos fraccionales fenólicos en las semillas de amaranto son necesarios (Klimczak *et al.* 2002).

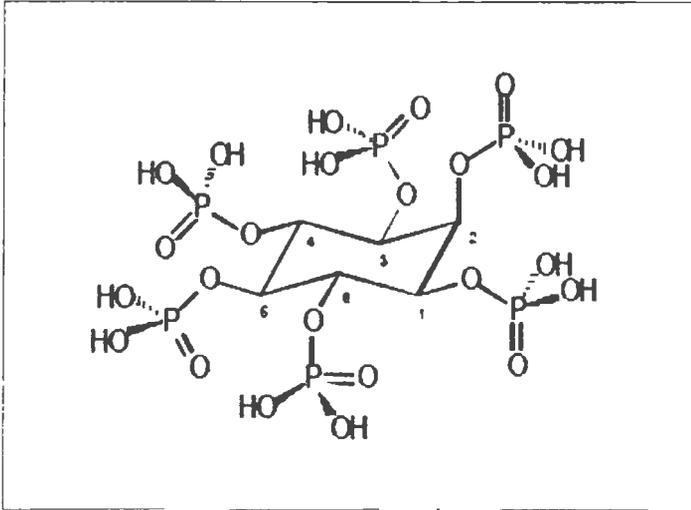
Basado en los resultados obtenidos, las semillas de Amaranto pueden ser una potencial fuente de antioxidantes naturales (Klimczak *et al.* 2002).

Los flavonoides myricetin, quercetin, kaemferol y (+)-catequina son antioxidantes en metil lincolato. Es evidente que la actividad antioxidante de flavonoides es generalmente gobernada por su estructura química. Cuanto mayor hidroxilación del anillo B mejora el efecto antioxidante de flavonoides. Sin embargo, también otras estructuras características tales como glicosilación y el 2,3 doble enlace tan bien como 3-hidroxil y 4-ceto sustituyentes en el anillo C afectó la actividad antioxidante de flavonoides en metil lincolato (Pekkarinen *et al.*, 1999).

## **2.6. Fitatos**

En 1872 Pfeffer descubrió en las semillas de los vegetales una sal cálcico-magnésica de un compuesto orgánico que se caracterizaba por contener en su estructura muchos grupos fosfato, compuesto al que llamó fosfato orgánico. Actualmente conocemos este compuesto con el nombre de fitato (myo-inositol hexafosfato). Neuberg fue uno de los primeros investigadores que estudió y propuso una posible estructura para este fosfato orgánico, no obstante, fue Anderson quien en 1914 describió correctamente la estructura del fitato (Fig. 10).

**Figura 10. Estructura del fitato o ácido myo-inositol 1,2,3,4,5,6-hexakis (dihidrogenofosfato) (IUPAC, 1968)**



Fuente: Grases *et al.*

Tuvieron que pasar casi 50 años desde su descubrimiento, hasta que entre los años 1920 y 1940 Mellanby decidiera realizar los primeros estudios nutricionales del fitato. Estos estudios parecían indicar que el fitato sódico inhibía la absorción de calcio en perros llegando a provocar raquitismo. Sin embargo al reemplazar el ácido fítico o fitato sódico por fitina (fitato cálcico-magnésico) que es la sal que se encuentra generalmente en forma natural en las semillas vegetales no sólo se eliminan los efectos raquitogénicos producidos por el ácido fítico o su sal sódica, sino que disminuía el raquitismo que también se observaba en algunos de los animales control. Desde entonces se ha discutido repetidamente la influencia del fitato sobre la absorción intestinal de minerales y su biodisponibilidad, siendo el calcio, el hierro y el zinc los metales más estudiados (Grases *et al.*).

A partir de esos estudios se creó y difundió la falsa idea de que el fitato poseía propiedades antinutritivas, proponiéndose su eliminación de la dieta con el fin de

evitar los problemas de biodisponibilidad de determinados metales. Sin embargo, trabajos recientes demuestran que sólo en el caso de ingerir grandes cantidades de alimentos ricos en fitato junto con dietas pobres en contenido mineral se pueden producir problemas de biodisponibilidad mineral. Así incluso la ingesta de 2 g de fitato por día no afecta al balance mineral, cuando el consumo de minerales es adecuado (Grases *et al.*).

En los últimos años, casi 50 desde que se clasificara erróneamente el fitato como antinutriente, se ha comprobado que esta sustancia se absorbe a nivel gastrointestinal y por tanto se encuentra de forma natural en tejidos y fluidos biológicos de los mamíferos (Grases *et al.*).

El fitato resulta ser un potente inhibidor de la formación de radicales hidroxilo, de modo que puede actuar como un antioxidante natural protegiendo a las células de posibles daños ocasionados por los radicales hidroxilo, lo que induce a pensar que la acción antioxidante pueda ser una de sus funciones biológicas de evidente importancia (Grases *et al.*). El ácido fítico o los fitatos son hidrolizados por una enzima fosfatasa ácida (fitasa), liberando los ortofosfatos y el inositol (Brenes).

El fósforo fítico constituye la porción principal del fósforo total de las semillas de cereales y oleaginosas, representando el 60-80% de este fósforo. En el trigo y el arroz, su endospermo está casi desprovisto de fitato, mientras que la capa de aleurona y el salvado- capa de aleurona, testa y pericarpio- contienen grandes cantidades. En el arroz, más del 80% del fitato se encuentra en la parte externa del salvado. Por el contrario, en el maíz casi el 90% del ácido fítico se encuentra concentrado en el germen (Brenes).

Los inositol difosfato (IP2) e inositol monofosfato (IP1), al ser solubles y no interferir en la utilización de los minerales, se consideran como parámetros poco críticos para

ser analizados. El 97% de los fosfatos de inositol de los granos se encuentran como IP6 y el resto como IP5 (Brenes).

El ácido fitico puede formar sales insolubles con cationes di y trivalentes a pH neutro (Zn, Cu, Co, Mn, Fe y Mg), impidiendo que estos minerales puedan ser absorbidos a nivel intestinal. El ácido fitico también puede interferir en la digestión de la proteína al afectar la solubilidad de esta y de las pepsinas debido a los enlaces iónicos que se forman, a pH ácido, entre el ácido fitico con fuerte carga negativa y la carga positiva de las proteínas. A pH neutro y alcalino, tanto el ácido fitico como la proteína poseen cargas negativas, por lo que se cree que cationes multivalentes como el calcio son necesarios para formar el complejo fitato-proteína. *In vitro* se ha observado que inhibe la actividad de la tripsina y la conversión del tripsinógeno en tripsina, también puede afectar a la digestión del almidón (Brenes).

Recientemente, un número de efectos benéficos en la salud humana han sido atribuidos a este compuesto, incluyendo la inhibición de la cristalización de sales de Ca patológicas (cálculos a la vesícula) (March *et al.* 2001).

El proceso de cristalización indeseable puede tomar lugar en el riñón o en el tracto urinario.

Algunos de los efectos benéficos del ácido fitico es que tiene propiedades anticancerígenas (Shamsuddin and Vucenik, 1999 citados por Okot-Kotber *et al.*, 2003) y efectos preventivos contra enfermedades al corazón y diabetes (Janeb and Thompson, 2002 citados por Okot-Kotber *et al.*, 2003). El efecto negativo conocido es la unión de cationes divalentes tales como Mg, Ca, Zn y Fe formando complejos insolubles, reduciendo de esta manera su biodisponibilidad (Cosgrove, 1966; Reddy *et al.*, 1982 citados por Okot-Kotber *et al.*, 2003)

Estos efectos negativos podrían ser aliviados por la fitasa. La fitasa hidroliza el ácido fítico a myo-inositol y fosfato inorgánico. La fitasa microbiana de *Aspergillus Niger* ha sido empleada para minimizar los efectos negativos del ácido fítico en alimentos basados en cereal, sin embargo otras fuentes tales como fracciones de molienda de trigo, podrían ser alternativas naturales como lo demuestran Okot-Kotber *et al.* (2003).

El ácido fítico es encontrado en altas concentraciones en las semillas de granos, legumbres secas y productos oleaginosos y en menor cantidad en tubérculos y productos del jardín. En cereales aproximadamente 1 - 2% del peso de la semilla es ácido fítico, y puede también alcanzar de 3 - 6%. Refiriéndose a su localización, el 90% está en el germen del maíz, mientras que en el trigo y el arroz está distribuido en grandes proporciones en la cubierta externa, en el pericarpio y en la capa aleurona (adherente a la fracción del salvado) (Febles *et al.*, 2002). Sin embargo en la quinua se encuentra distribuido en el endospermo (Ruales & Nair, 1993 citados por Valencia *et al.*, 1999).

El verdadero mecanismo de la interacción entre ácido fítico y minerales no es aún entendido, aunque es posible que pueda formar un complejo con el catión en la misma o diferentes moléculas dentro de un grupo fosfato simple o entre 2 grupos fosfatos.

Los grupos ácidos presentes en esta molécula facilita la formación de muchas sales. Los metales alcalinos son solubles en agua, mientras que las sales de metales divalentes son casi insolubles, muchos estudios *in vitro* muestran que los complejos proteína-fitato son formados por interacciones electrostáticas no disponibles biológicamente por humanos bajo condiciones fisiológicas normales. Además, estas proteínas tienen menos posibilidad de ser atacadas por las enzimas proteolíticas que cuando están libres (Febles *et al.*, 2002).

Sin embargo, es importante una correcta combinación de alimentos para proveer suficientes cantidades de todos los nutrientes esenciales para el organismo particularmente en esos grupos poblacionales como son: niños, adolescentes, embarazadas y ancianos, donde el consumo de minerales es especialmente importante. La harina de trigo refinada es a la que se le ha eliminado parcialmente el germen y el salvado, en cambio la harina de trigo entero es obtenida considerando el germen y el salvado (Febles *et al.*, 2002).

Las dietas en países en desarrollo son usualmente basadas en cereales y leguminosas. Estas dietas son a menudo ricas en minerales, pero la biodisponibilidad de estos son usualmente bajos. La anemia es también un problema de salud común en el mundo, y la mitad de los casos es ocasionado por deficiencia de Fe, lo cual es explicado por la baja disponibilidad del Fe en dietas basadas en vegetales.

Esta deficiencia se agrava con el incremento en la demanda de Fe durante la menstruación, desarrollo, embarazo, así como por la infestación de parásitos y pérdida de sangre patológica. Niños, jóvenes, embarazadas y mujeres en lactancia son a menudo los más afectados y particularmente en los países en desarrollo. Por ejemplo la anemia en la mujer embarazada de Sudamérica es 2 veces que la que predomina en Norteamérica (Yépez & Estévez, 1987 citado por Valencia *et al.*, 1999).

Algunos estudios realizados demuestran que mujeres que tomaban unas 2.7 raciones de alimentos integrales al día presentaban un riesgo de padecer enfermedades cardíacas coronarias un 30% menos que quienes solo ingerían 0.13 raciones al día (VTT, 2001). Basta con tomar una ración de cereales integrales en el desayuno o empezar a consumir pan, arroz y pastas integrales para mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer ciertas enfermedades. Los efectos protectores de los alimentos integrales se extienden al cáncer, especialmente al cáncer al colon. Los cereales son

ricos en hidratos de carbono fermentables, que la flora intestinal convierte en ácidos grasos de cadena corta. Estos ácidos reducen la actividad de ciertos factores que provocan cáncer. Por otra parte, las fibras de los cereales integrales incrementan el volumen de las heces y envuelven los carcinógenos, que son así eliminados del intestino antes que puedan causar problemas (VTT, 2001).

Las enzimas de la levadura (presente en el pan) y los métodos de procesamiento de alimentos que requieren calor, como el que se emplea para obtener cereales de desayunos a base de salvado, destruyen casi todos los fitatos. Para la mayoría de la gente, las dosis de fitatos presentes en la dieta no representan un problema, pero aquellas personas que ingieren grandes cantidades de cereales integrales pueden necesitar complementos minerales (VTT, 2001).

En el siguiente Cuadro 29 se observa el contenido de ácido fítico en algunos alimentos.

**Cuadro 29. Contenido de ácido fítico en algunos alimentos**

Alimentos		% Ac Fítico	Alimentos		% Ac Fítico
Cereales (solo grano seco)	Cebada	1.02	Frutas y Semillas secas	Almendra	1.42
	Maíz	0.86		Castaña	0.11
	Mijo	0.92		Cocoa	1.04
	Avena	1.02		Coco	0.26
	Arroz	0.90		Café	0.47
	Centeno	0.97		Algodón	2.94
	Sorgo	1.06		Avellana	0.92
	Triticale	0.89		Mostaza	2.0
	Trigo	1.02		Nueces del Brasil	1.8
	Haba	1.41		Nuez de palma	0.26
Legumbres (solo semillas secas)	Garbanzo	0.55	Pistacho	1.38	
	Lentejas	0.70	Canola	2.50	
	Maní	1.70	Cártamo	0.70	
	Arveja	1.00	Ajonjolí	4.71	
	Soya	1.55	Girasol	2.10	

Pulpa de frutas con semillas	Manzana	1.37	Semillas Inmaduras /Frutas	Habas verdes	0.42
	Albaricoque	0.70		Arveja verde	0.42
	Palta	0.05		Choclo	0.25
	Arándano agrio	0.01		Melón	1.79
	Cereza	0.27		Aceituna	0.12
	Naranja	0.72		Papaya	1.44
	Tangarine	0.72		Durazno y Nectarines	0.40
	Lima	0.72		Peras	1.29
	Pepino	1.07		Pimiento	1.39
	Pepinillo	1.07		Ciruella	0.12
	Berenjena	1.42		Frambuesa	0.42
	Higo	0.80		Fresa	1.12
	Uva	0.18		Tomate	1.66
	Kivi	1.34		Sandía	1.30
	Mango	0.24			

Fuente: Lott *et al.* (2000)

### 2.6.1. Efectos farmacológicos del ácido fítico

Según Martínez *et al.* (2002), a bajas concentraciones del ácido fítico, ha sido descrita bibliográficamente la existencia de efectos positivos entre los que tenemos:

- Retardo de la digestibilidad del almidón y disminución de la respuesta a la glucosa en sangre.
- Hipocolesterolemia
- Antioxidante, ya que interacciona con Fe, inhibiendo la formación de radicales hidroxilo, dependiendo del número de fosfatos presentes (Agte *et al.*, 1999).
- Prevención de cálculos renales
- Control de caries dental y cáncer
- Mejora de la capacidad de captación de oxígeno de los glóbulos rojos

- Posible papel preventivo frente a diversas patologías cardíacas, derivado del control de la hipercolesterolemia y la arteriosclerosis en el hombre.

Como antídoto frente a la intoxicación aguda por Plomo, debido principalmente a su capacidad de unirse a minerales.

### 2.6.2. Metodología para el análisis de fitatos

Dado que el ácido fítico no tiene un espectro de absorción característico, y por tanto no existen reactivos específicos para su identificación, su determinación ha constituido un problema analítico durante mucho tiempo. Hasta 1980, el ácido fítico era exclusivamente determinado a través de métodos de precipitación no específicos o de intercambio iónico. En la actualidad aunque algunos de los métodos anteriores siguen vigentes, el empleo de procedimientos en los que se incluyen IPLC de fase reversa, cromatografía de par iónico o RMN es común (Martínez *et al.*, 2002).

Desde el punto de vista médico se han utilizado varios métodos para cuantificar ácido fítico en muestras humanas como Cromatografía líquida, detección conductimétrica con ión supresión, detección del índice refractivo y por cromatografía de gases utilizando varios reactivos como: anhídrido trimetilclorosilano, heptafluorobutirilimidazol y trifluoroacético.

De todos estos métodos la de cromatografía de gases muestra mejor sensibilidad en esta investigación se tomó muestras humanas tales como plasma, orine, biopsia y otras muestras patológicas tales como cálculos al riñón. Esto puede contribuir a la elucidación de la acción del ácido fítico y la posible relación de bajo contenido de ácido fítico en muestras humanas con estados patológicos tales como litiasis renal (March *et al.*, 2001).

## 2.7. Digestibilidad *in vitro* de las proteínas

La digestión consiste en una serie de cambios físicos y químicos del alimento que es preparado para su consecuente absorción a través del tracto intestinal y posterior incorporación al torrente sanguíneo (Delgado, 2002).

En el proceso de digestión de los alimentos por el hombre, la primera etapa de hidrólisis se lleva a cabo en el estómago mediante la acción catalítica de una carboxilproteínasa, la pepsina, seguida posteriormente por la proteólisis catalizada por las proteínas neutras pancreáticas, tripsina, quimotripsina y carboxilpeptidasa. La pepsina segregada por la mucosa gástrica en el medio ácido del estómago, cataliza la hidrólisis rápida de las moléculas proteicas grandes descomponiéndolas en fragmentos polipeptídicos producidos por la pepsina, produciéndose la adsorción rápida desde el lumen del intestino delgado de los di- y tripéptidos y de los  $\alpha$ -aminoácidos libres (Delgado, 2002).

La digestión proteica ocurre por hidrólisis de los enlaces peptídicos entre aminoácidos. Hay dos clases principales de enzimas digestivas proteicas: las endopeptidasas, que rompen las proteínas por hidrólisis de los enlaces peptídicos entre aminoácidos específicos a lo largo de la molécula, y las exopeptidasas que van separando un aminoácido cada vez del extremo de la molécula, de nuevo por hidrólisis del enlace peptídico. (Delgado, 2002).

Las primeras enzimas que actúan sobre la proteína de la dieta son las endopeptidasas: pepsina del jugo gástrico y tripsina, quimotripsina y elastasa segregada por el páncreas del intestino delgado. El resultado de la acción combinada de estas enzimas es que las largas moléculas de proteínas se rompen en varios polipéptidos de tamaño medio, con un gran número de extremos sobre los cuales actúan las exopeptidasas (Delgado, 2002).

Hay dos tipos de exopeptidasa: las carboxipeptidasas son segregadas en el jugo pancreático y liberan secuencialmente aminoácidos a partir del grupo carboxilo libre terminal de los péptidos; las aminopeptidasas son segregadas por las células de la mucosa intestinal y liberan secuencialmente aminoácidos a partir del grupo amino terminal de los péptidos (Delgado, 2002).

La tripsina sólo cataliza la hidrólisis de aquellos enlaces peptídicos en que la función carbonilo es aportada por el resto de lisina o por el de arginina, con independencia de la longitud o de la secuencia aminoacídica de la cadena. El número de fragmentos peptídicos (y de aminoácidos libres) resultantes de la acción de la tripsina puede así predecirse según el número total de restos de lisina o de arginina presente en la cadena (Huaman Del Pino, 1997 citado por Delgado, 2002).

La quimotripsina es una enzima digestiva cuyo papel biológico consiste en catalizar la hidrólisis de proteínas en el intestino delgado. Es selectiva para los enlaces peptídicos contiguos al extremo carboxílico de las cadenas laterales aromáticas de tirosina, triptófano y fenilalanina y de grandes residuos hidrofóbicos como la metionina. La quimotripsina tiene una significación adicional como miembro de una familia importante de proteínas, las serín proteasas. La quimotripsina, una enzima de 25 Kd está constituida por tres cadenas polipeptídicas conectadas mediante dos puentes de disulfuro intercatenarios. La quimotripsina se sintetiza como un precursor inactivo de una sola cadena denominado quimiotripsinógeno (Delgado, 2002).

La digestibilidad mide la velocidad con que las enzimas proteolíticas del sistema digestivo hidrolizan las proteínas; depende de la secuencia de aminoácidos de la proteína, así como la estructura terciaria.

Según Martínez *et al.* (2000) citado por Delgado (2002) los factores que afectan la digestibilidad de las proteínas son:

- Conformación de la proteína; las proteínas fibrosas e insolubles (queratina y colágeno) son más difícilmente atacadas por las proteasas de la globulina soluble. Sin embargo, la desnaturalización proteica por un calentamiento moderado suele facilitar su digestión.
- Fijación de metales, lípidos, ácidos nucleicos, celulosas u otros polisacáridos a las proteínas, lo que puede dificultar su digestión.
- Presencia de factores antinutritivos, tales como inhibidores de la tripsina y quimotripsina, que dificultan la digestión de las proteínas; otros inhibidores perjudican la absorción de aminoácidos.
- El tamaño y área superficial de las partículas proteicas digeridas influye sobre su digestibilidad; así por ejemplo, la molienda fina de la harina tiende a mejorar la digestibilidad de las proteínas de los cereales.
- El procesado a elevada temperatura, a pH alcalinos, o en presencia de carbohidratos reductores, suele disminuir la digestibilidad proteica y la disponibilidad biológica de varios aminoácidos, especialmente la lisina.
- Entre los distintos individuos se dan diferencias biológicas que influyen en su capacidad de digestión de proteínas y absorción de aminoácidos.
- Su naturaleza tiene un papel importante, la queratina, rica en enlaces disulfuro o el colágeno que contiene diversos tipos de enlaces covalentes entre las cadenas proteicas, se degradan con menor facilidad y son poco digestibles. La presencia de polisacáridos tales como la celulosa, de algunos oligosacáridos tales como los que se encuentran en las semillas de leguminosas, también son factores de menor digestibilidad.

La estructura terciaria de las proteínas es un factor muy importante que determina su digestibilidad, ya que la acción de las enzimas depende de su facilidad para llegar a los enlaces específicos que hidrolizan; es decir, una estructura terciaria muy estable y

rígida impide que las enzimas proteolíticas ataquen a la proteína. Por esto, algunos tratamientos con calor, ácidos, álcalis, etc inducen la desnaturalización de la proteína y la ruptura de su estructura terciaria, con lo que mejoran el valor nutritivo de las proteínas vegetales (Cheftel y Cheftel, 1988 citados por Delgado, 2002).

### **2.7.1. Metodología para el análisis de digestibilidad *in vitro* de proteína**

Muchas metodologías para hallar la digestibilidad *in vitro* de proteínas han sido desarrolladas. Akeson and Stahmann (1964) citados por Hsu *et al.* (1977) encontraron que un sistema enzimático pepsina-pancreatina daban una aproximación exacta de la digestibilidad de proteína. Una preparación enzimática de *Streptomyces griseus* fue también encontrada para ser un buen predictor de digestibilidad de proteína (Ford and Salter, 1966 citados por Hsu *et al.* 1977). Buchanan (1969) and Byers (1969) citados por Hsu *et al.* (1977) describieron un sistema *in vitro* para medir la digestibilidad proteica de concentrado proteico de hojas de trigo con una digestión enzimática utilizando papaína. Los parámetros obtenidos concuerdan satisfactoriamente con los resultados *in vivo* con bioensayos con ratas. El sistema enzimático descrito por Akeson y Stahmann (1964) y por Buchanan and Byers (1969) citados por Hsu *et al.* (1977) fueron reinvestigados por Saunder *et al.* (1973) citado por Hsu *et al.* (1977).

Ellos encontraron que los valores obtenidos del sistema enzimático usado por Akeson y Stahmann (1964) citados por Hsu *et al.* (1977), mostraron una excelente correlación con datos *in vivo* ( $r= 0.88$ ), mientras que los resultados de la digestión con papaína mostraron una pobre correlación con los datos *in vivo*. Saunder *et al.* (1973) citado por Hsu *et al.* (1977), desarrollaron un sistema papaína-tripsina, los resultados *in vitro* correlacionaron muy bien con los resultados *in vivo* ( $r=0.91$ ). Maga et al (1973) citado por Hsu *et al.* (1977), indicó que las cantidades iniciales de hidrólisis por tripsina es comúnmente usadas en fuentes proteicas como buen indicador de su digestibilidad. Rhinehart (1975) citado por Hsu *et al.* (1977), modificó el

procedimiento de Maga e investigó la correlación entre digestibilidad *in vivo* y digestibilidad *in vitro* de proteína. Rhinehart examinó muchos sistemas enzimáticos los cuales incluían combinaciones de tripsina, pepsina-tripsina, tripsina-quimotripsina, y tripsina-quimotripsina-peptidasa. Los coeficientes de correlación fueron 0.79, 0.72, 0.80, y 0.74 respectivamente. Estos métodos *in vitro* no han sido ampliamente aceptados. La razón fue tanto porque no había correspondencia con los datos *in vivo*, o porque fueron complicados y mucho tiempo empleado. consecuentemente, difícil para aplicarlo en control de calidad en planta.

Posteriormente Hsu (1977) utilizó un método *in vitro* empleando un sistema multienzimático para la estimación de digestibilidad de proteína. Este sistema multienzimático consistía de tripsina, quimotripsina y peptidasa. encontró que el pH de la suspensión proteica inmediatamente después de digestión de 10 minutos con la solución multienzimática fue altamente correlacionado con la digestibilidad aparente de ratas *in vivo*. El análisis de regresión de 23 muestras probadas mostraron que el coeficiente de correlación entre el pH a los 10 minutos y la digestibilidad aparente *in vivo* fue 0.90 con un error estándar de 2.23. La ecuación de regresión fue:  $y = 210.464 - 18,103 x$ , donde "x" fue el pH de la suspensión proteica inmediatamente después de los 10 minutos de digestión con la solución multienzimática. Lo más resaltante de esta investigación fue que el ensayo fue realizado en 1 hora con un alto grado de sensibilidad.

### IIL- MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Lugar de Ejecución.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la Planta Piloto y los laboratorios de *Análisis Instrumental, Fisicoquímica y Biotecnología de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria La Molina (UNALM)*.

#### 3.2. Materiales

##### 3.2.1. Materia Prima

Se emplearon 10 accesiones de kiwicha provenientes de la Estación Experimental Santa Ana de Huancayo como se puede ver en el Cuadro 30.

**Cuadro 30. Accesiones de kiwicha utilizadas en el trabajo de investigación**

Accesión	Tratamiento		Rdto T/Ha	Color panoja	Forma de panoja
1	Taray 90	Variedad	1.84	Rosado	Compacta erecta
2	87-25-1	Línea	1.66	Rosado	Erecta compacta
3	DURANGO HI	Línea	1.62	Rosado	Decumbente
4	OSCAR BLANCO	Variedad	1.60	Rosado	Decumbente
5	ECOTIPO 2009	Ecotipo	1.55	Rosado	Erecta tipo cresta
6	EC-K CCA-062	Línea	1.54	Rosado	Compacta erecta
7	EC-K CCA-007	Línea	1.26	Rosado	Erecta compacta
8	EC-K CC-027	Línea	0.92	Verde amarillo	Decumbente
9	EC-K CCA-051	Línea	0.87	Granate	Erecta compacta
10	EC-K-PICA	Línea	0.56	Granate	Erecta compacta espinoso

### 3.2.2. Equipos

- Balanza analítica Explorer OHAUS Corporation. Made in USA.
- Baño Maria con agitación, GFL 1083.
- Bomba de vacío VACUUNBRAND GMBH+CO. Made en Germany.
- Centrífuga MLW MEDIZINTECHNIK T62.1. Made in Germany.
- Espectrofotómetro SPECTRONIC INSTRUMENTS 20 GENESIS. Made in USA.
- Agitador Magnético (Barnstead Electric USA)
- Estufa de aire caliente. MEMMERT. Made in Germany.
- Molino de cuchillas FITZ MILL, Serie 8293, The Fitz Patrick Company. Illinois.
- Muffa. GAILLENKAMP. FR520.
- pH-metro SCHOTT GERATE. Hadylab 1. Made in Germany.

### 3.2.3. Materiales

- Probetas 10, 100, 250 ml.
- Pipetas de 1, 5, 10 ml
- Vasos de precipitación 50, 100, 250, 500 ml
- Tubos de ensayo
- Tubos de plástico para la centrifuga
- Micro pipetas
- Cubetas de cuarzo
- Fiolas de 20, 50, 100, 500 y 1000 ml
- Matraces 100, 250 ml
- Bureta
- Placas petri

- Termómetro de 0-300°C
- Termómetro de 0-100°C
- Cronómetro
- Baguetas, embudos, bombilla, gradillas, etc
- Papel de filtro, algodón, tela filtrante, papel aluminio, etc
- Otros materiales recomendados para el análisis de los métodos específicos

#### 3.2.4. Reactivos

- Agua desionizada
- Metanol Absoluto (Mallinckrodt)
- Etanol (Montana)
- Acido bórico (Riedel)
- Acido nítrico (Baker)
- Hidróxido de sodio (Merk)
- Hidróxido de potasio (Merck)
- $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (Merck)
- Acido sulfúrico (Riedel)
- Rojo de metilo (Riedel)
- Verde de bromocresol (Riedel)
- Sulfato de Potasio
- Sulfato de Cobre
- Hexano (Merck)
- Folin - Ciocalteau (Sigma Aldrich)
- 2,2'-Azinobis- (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) (Sigma Aldrich)
- 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich)
- Persulfato de potasio

- $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (Sigma)
- Acido clorhidrico (Riedel)
- EDTA- $\text{Na}_2$  (J.T. Baker)
- Acido Sulfosalicilico (Baker)
- Glicina (Merk)
- Tripsina de páncreas de puerco con 14190 unidades BAEE/mg de proteína
- Quimiotripsina de páncreas de bovino 60 unidades/mg de polvo
- Peptidasa de intestino de puerco 40 unidades/g de polvo.
- Caseína

### **3.3. Métodos de Análisis**

#### **3.3.1. Composición proximal**

- a. Humedad: Se evaluó la humedad de la muestra por la pérdida de peso que sufre durante el calentamiento, hasta obtener peso constante (AOAC, 1995).
- b. Cenizas: La muestra se incineró a  $550^\circ\text{C}$  para quemar todo el material orgánico. El material inorgánico que no se destruye a esa temperatura se le llama ceniza. (AOAC, 1995).
- c. Proteína: Se determinó mediante el método semi-micro Kjeldahl, considerando 6.25 como factor de conversión del nitrógeno a proteína (AOAC, 1995).
- d. Extracto etéreo: Se determinó empleando el método Soxhlet (AOAC, 1995)
- e. Fibra cruda: Se determinó eliminando los carbohidratos solubles por hidrólisis a compuestos más simples mediante la acción de los ácidos y álcalis débiles en caliente, y las cenizas (por diferencia de peso después de la ignición de la materia fibrosa obtenida) (AOAC, 1995).

- f. Extracto libre de nitrógeno: Se obtuvo por diferencia del análisis de cenizas, proteína, extracto etéreo y fibra cruda (AOAC, 1995).

### 3.3.2. Compuestos fenólicos totales

Para determinar los compuestos fenólicos totales se tuvo que preparar la muestra como se indica en el Anexo 1.

Los fenólicos totales se cuantificaron espectrofotométricamente con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Swain y Hills, 1959), según el procedimiento descrito por Yu *et al.* (2002). Se realizó una extracción de los fenólicos totales con etanol, después de separarlos por centrifugación, el sobrenadante se diluyó con agua nanopura y una solución al 20% de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . En esta situación se determinó el contenido de fenólicos totales leyendo la absorbancia del complejo formado a 725 nm., empleando ácido gálico como estándar. El método se describe en el Anexo 2.

Cálculo:

Curva estándar de ácido gálico

$$y = 0.001586 + 0.22407447 (\text{Absorbancia estable a } 725 \text{ nm})$$

Donde:

Y = mg de ácido gálico/ml de muestra

### 3.3.3. Capacidad antioxidante

Para determinar la capacidad antioxidante se tuvo que preparar la muestra como se indica en el Anexo 1.

La capacidad antioxidante hidrofílica se determinó por el método de Brand-Williams *et al.* (1995) donde los compuestos con actividad antioxidante reaccionan con el radical estable 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH•) en una solución de metanol.

La reducción del DPPH• (ver reacción abajo) es seguida por monitoreo de la disminución de la absorbancia en la longitud de onda característica durante la reacción. El radical en forma de DPPH• absorbe a 515 nm y por reducción con un antioxidante (AH) o una especie radical (R•) disminuye la absorbancia. El método se describe en el Anexo 3. La reacción es la siguiente:



Cálculo:

$$\text{Trolox Eq.} = (864.41 * \Delta\text{DPPH}) (0.25) \left( \frac{\text{ml de extracto total}}{\text{gr muestra}} \right) \left( \frac{150 \mu\text{L de muestra react}}{\mu\text{L de extracto de mues}} \right)$$

Trolox Eq. =  $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox / g de muestra

Donde:

$\Delta\text{DPPH}$  = Disminución de la Absorbancia a 515 nm = (Absorbancia del Blanco a los 0 min menos Absorbancia de la muestra hasta que se estabilice)

También se determinó la capacidad antioxidante hidrofílica por el método de Re *et al.* (1999), donde los compuestos con actividad antioxidante reaccionan con el radical estable  $\text{ABTS}^+\bullet$  (2,2'-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)), que absorbe a 734 nm, monitoreándose la reducción de su absorbancia durante la reacción. El método se describe en el Anexo 4.

**Cálculo:**

$$\text{Trolox Eq.} = (535.92 * \Delta\text{ABTS}) \left( 0.25 \left( \frac{\text{ml de extracto total}}{\text{gr de muestra}} \right) \left( \frac{150 \mu\text{L de muestra reactante}}{\mu\text{L de extracto de muestra}} \right) \right)$$

Trolox Eq. =  $\mu\text{g}$  Equivalente Trolox / g de muestra

Donde:

$\Delta\text{ABTS}$  = Disminución de la Absorbancia a 734 nm = (Absorbancia del Blanco a los 0 min menos Absorbancia de la muestra hasta que se estabilice)

**3.3.4. Fitatos**

Se determinó por el Método de complexometría indirecta con Fe (III), reportado por García-Villanova *et al.* (1982) citado por Schmidt-Hebbel (1986) en la que el ácido fítico extraído de la muestra de harina de cereal con una solución de HCl y Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se hizo reaccionar con una solución de Fe (III), observándose un precipitado blanco de fitato férrico. El sobrenadante se ajustó a un pH de 2.5 y luego se tituló en caliente (70 °C) con EDTA-Na<sub>2</sub> 0.01M hasta viraje del color rojo marrón al amarillo claro, usando como indicador una solución de ácido sulfosalicílico. El método se describe en el Anexo 5.

Cálculo:

$$\% \text{ Acido fítico} = \frac{0.66 (10 - v)}{P}$$

Donde:

v: son los ml de EDTA-Na<sub>2</sub> + 2H<sub>2</sub>O 0.01 M

P: los g de la muestra.

### 3.3.5. Digestibilidad *in vitro* de proteína

La digestibilidad *in vitro* de proteína se realizó por el método de Hsu *et al.* (1977) (Ver Anexo 6) en el que la muestra (suspensión proteica) a un pH inicial de 8 se incubó a 37 °C y se añade la solución multienzimática de tripsina-quimotripsina-peptidasa, se midió la disminución de pH durante los primeros 10 minutos. Los datos de pH en este periodo de tiempo son registrados a intervalos de 1 minuto para posteriormente confeccionar un gráfico de pH versus tiempo de incubación.

El cálculo de la digestibilidad *in vitro* de la proteína se realizó mediante la siguiente ecuación:

$$Y = 210.464 - 18.103X$$

Donde:

X= pH de la suspensión proteica luego de 10 minutos de digestión con el sistema multienzimático.

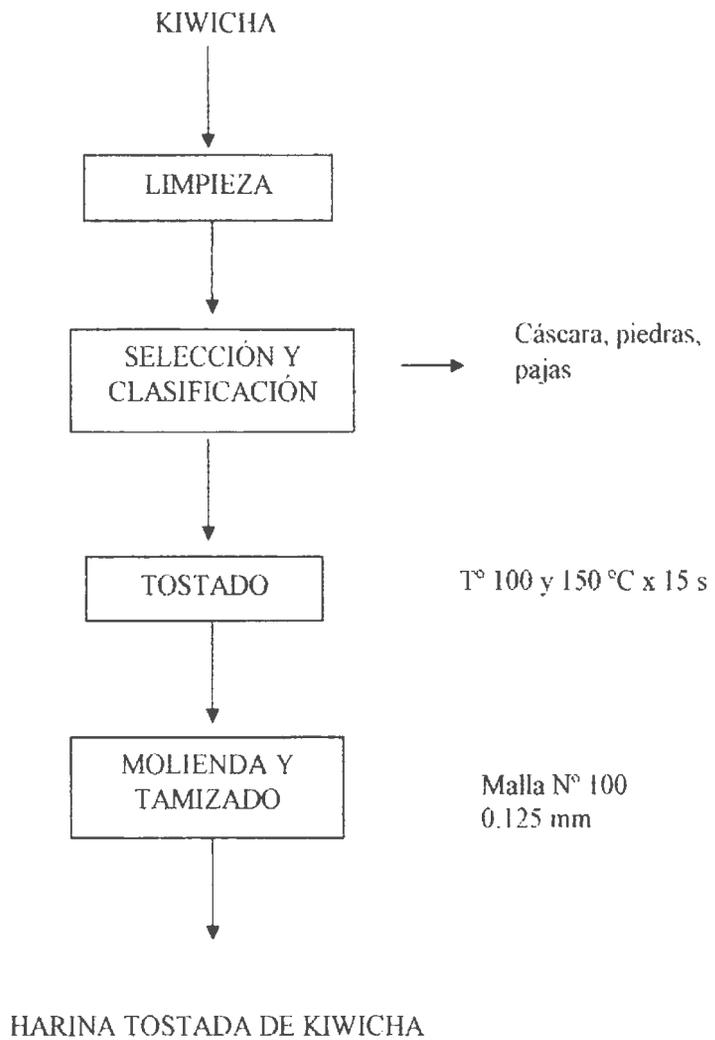
Y = porcentaje de hidrólisis de la proteína.

## 3.4. Metodología Experimental

### 3.4.1. Obtención de la harina tostada de kiwicha

En la Figura 11 se muestra el flujo de procesamiento para la obtención de harina tostada de kiwicha. Las siguientes operaciones que se detallan a continuación fueron utilizadas por Ruiz (2002):

FIGURA 11. FLUJO DE PROCESAMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DE HARINA TOSTADA DE KIWICHA



**a. Limpieza**

Esta operación permite separar las partículas de tierras, piedras, pajas, cáscaras y materiales extraños al momento de la adquisición. Para esto se realiza una limpieza a nivel manual y se utiliza los coladores o tamices.

**b. Selección y clasificación**

Los granos de kiwicha se seleccionan de acuerdo al tamaño por la confusión de otras partículas extrañas y se clasifica de acuerdo a la variedad.

**c. Tostado**

El objetivo del tostado es la destrucción de antinutrientes como las hemaglutininas, factor antitripsico, oxalatos, nitratos de bajas concentraciones, y disminución de la carga microbiana; asimismo conseguir una mejora de las propiedades físicas del producto como consecuencia de la modificación parcial del almidón como la dextrinización. Ruiz (2002), usó la temperatura de 150 a 155 °C por 15 a 20 segundos. Luego se espera a que se enfríe.

**d. Molienda y Tamizado**

La kiwicha tostada se muele en un molino de martillos, aplicándose un tamiz de 0.125 mm con malla 100.

**e. Embolsado y Sellado**

La harina tostada de kiwicha se embolsa en bolsas de polipropileno de baja densidad.

**3.5. Diseño Experimental y análisis estadístico**

En la Figura 12 se muestra el diseño experimental que se siguió en la presente investigación. La totalidad de análisis propuestos (acápite 3.3) se realizó por triplicado y se expresó los resultados como media  $\pm$  desviación estándar.

FIGURA 12. DISEÑO EXPERIMENTAL

KIWICHA	LIMPIEZA	SELECCIÓN Y CLASIFICACIÓN	EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS	TOSTADO	MOLIENDA Y TAMIZADO	EVALUACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS
Accesión 1				100°C x 15 s 150°C x 15 s		
Accesión 2						
Accesión 3				100°C x 15 s 150°C x 15 s		
Accesión 4						
Accesión 5				100°C x 15 s 150°C x 15 s		
Accesión 6						
Accesión 7				100°C x 15 s 150°C x 15 s		
Accesión 9						
Acces. 10				100°C x 15 s 150°C x 15 s		

Controles.		-Composición proximal	Fitatos (sólo 1 accesión)			-Humedad
Humedad		-Capacidad antioxidante				-Proteína
		-Fenólicos totales				-Digestibilidad <i>in vitro</i>
						-Capacidad antioxidante
						-Fenólicos Totales
						-Fitatos (solo 1 accesión)
Análisis estadístico.		-DCA				-DBCA
		-(ANVA)				-Arreglo Factorial
		-Arreglo Factorial				-Regresión Lineal Simple
		-Tukey				
		-Regresión Lineal Simple				

**Primera Etapa:**

Se evaluó la composición química proximal, la capacidad antioxidante y fenólicos totales de las 10 accesiones de kiwicha, con los resultados obtenidos se realizó un Análisis de Variancia (ANVA) en base a un DCA con arreglo factorial AxB (Factor A: accesiones, Factor B: método de capacidad antioxidante) y se vió si había diferencias entre cada accesión (tratamientos) con respecto a la capacidad antioxidante y se escogió las 5 accesiones que tenían mayor capacidad antioxidante.

**Segunda Etapa:**

A la accesión que se escogió con mayor capacidad antioxidante se le analizó su contenido de fitatos.

Luego se realizó el tostado a las 5 accesiones (tratamientos) que se escogieron con mayor capacidad antioxidante a dos temperaturas diferentes (100 y 150°C durante el mismo tiempo 15 sg).

**Tercera Etapa:**

Posteriormente se procedió a la molienda y tamizado, luego de la cual se evaluó su capacidad antioxidante tanto con la metodología de DPPH y ABTS y se analizaron los resultados mediante un ANVA en base a un Factorial AxB 2x2, donde A: Tº de tostado y B: Metodología para hallar la capacidad antioxidante. También se evaluó a las 5 accesiones (con mayor capacidad antioxidante en crudo), los fenólicos totales tanto a la kiwicha cruda y tostada a 100°C y 150°C, los resultados se analizaron mediante un ANVA con DBCA, donde los bloques eran las accesiones y los tratamientos eran la kiwicha cruda y tostada a 100°C y 150°C. Se realizó una regresión lineal simple para ver el efecto de y: capacidad antioxidante por el método del ABTS y el contenido de fenoles de las 10 accesiones de kiwicha cruda. También se realizó una regresión lineal simple para ver el efecto de y: capacidad antioxidante por el método del DPPH y el contenido de fenoles de las 10 accesiones de kiwicha cruda. Así mismo se realizó la regresión lineal simple entre y: capacidad antioxidante

de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y x: contenido de fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100 °C y una regresión lineal simple entre y: capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 150 °C y x: contenido de fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 150°C.

Además se determinó la digestibilidad *in vitro* de las 5 accesiones de kiwicha que tenían mayor capacidad antioxidante en crudo y se analizó estadísticamente mediante un ANVA con DBCA donde los bloques eran las 5 accesiones de kiwicha y los tratamientos eran crudo y las 2 temperaturas de tostado 100 y 150°C. También se realizaron 2 Regresión Lineal Simple para ver si había alguna relación entre la digestibilidad *in vitro* de proteína de la kiwicha tostada a 100°C y 150°C y el contenido de compuestos fenólicos de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C respectivamente.

Por otra parte se realizó la determinación de fitatos a la accesión 2 que era la que tenía mayor capacidad antioxidante en crudo y se realizó un análisis estadístico ANVA con DCA donde los tratamientos eran crudo y las 2 temperaturas de tostado 100°C y 150°C. Todas las pruebas estadísticas se realizaron con un nivel de significancia de 0.05.

También se realizaron 2 Regresión Lineal Simple para ver si existía alguna relación entre la CA medida por el método del ABTS y por el método del DPPH en las 10 accesiones de kiwicha cruda y viceversa.

## IV.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Composición proximal de la kiwicha

En el Cuadro 31 se muestra la composición proximal de la kiwicha cruda en base húmeda. Observamos que la humedad de las 10 accesiones se encuentran en un rango de 10.35%-10.92% y la humedad reportada por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) es de 10.8%, se halla dentro de este rango.

En cuanto a la proteína en base húmeda de las 10 accesiones de kiwicha están entre: 12.05-13.72% comparándolo con el porcentaje de proteína en base húmeda reportado por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) que es de 14.3%, si bien no está en el rango, se puede decir que está aproximado.

El porcentaje de grasa en base húmeda reportado por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) que es de 7% se encuentra dentro del rango del porcentaje de grasa en base húmeda de las 10 accesiones de kiwicha que es de 6.50-7.74%.

El porcentaje de carbohidratos en base húmeda reportado por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) es de 68.4%, un tanto mayor al porcentaje de carbohidratos en base húmeda de las 10 accesiones de kiwicha que se encuentran entre 63.07 - 65.70%.

El porcentaje de Fibra Cruda en base húmeda de la kiwicha cruda reportado por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) es de 7.5%, mientras que el porcentaje de

**Cuadro 31. Composición proximal de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda\*.**

Accesiones	% Agua	% Proteína	% Grasa	% ELN	% Fibra	% Ceniza
T1	10.35 ± 0.40	12.33 ± 0.26	6.62 ± 0.24	65.70	2.60 ± 0.02	2.4 ± 0.12
T2	10.50 ± 0.49	12.99 ± 0.76	6.50 ± 0.82	65.13	2.41 ± 0.03	2.47 ± 0.26
T3	10.69 ± 0.33	13.52 ± 0.20	6.87 ± 0.20	64.01	2.55 ± 0.20	2.36 ± 0.07
T4	10.75 ± 0.32	12.37 ± 0.76	7.06 ± 0.24	65.18	2.31 ± 0.14	2.33 ± 0.10
T5	10.67 ± 0.05	12.05 ± 0.12	7.74 ± 0.01	64.38	2.67 ± 0.05	2.49 ± 0.09
T6	10.92 ± 0.13	12.21 ± 0.19	6.94 ± 0.37	64.77	2.56 ± 0.05	2.6 ± 0.07
T7	10.65 ± 0.16	12.38 ± 0.26	7.23 ± 0.07	64.74	2.53 ± 0.02	2.47 ± 0.14
T8	10.80 ± 0.20	12.05 ± 0.15	7.21 ± 0.12	64.85	2.66 ± 0.34	2.43 ± 0.11
T9	10.69 ± 0.27	13.72 ± 0.29	7.21 ± 0.13	63.07	2.64 ± 0.06	2.67 ± 0.12
T10	10.37 ± 0.14	12.53 ± 0.22	6.86 ± 0.23	65.26	2.57 ± 0.10	2.41 ± 0.01

\*Resultado del promedio de tres repeticiones ± desviación estándar muestral.

Fibra Cruda en base húmeda de las 10 accesiones de kiwicha cruda están dentro del rango de: 2.31-2.67%, se puede decir que existe una diferencia marcada entre estos valores.

El porcentaje de Ceniza en base húmeda de la kiwicha cruda reportado por Málaga (1986) citado por Aparcana (1999) es de 2.8%, siendo el porcentaje de Ceniza en base húmeda obtenido en las 10 accesiones de kiwicha cruda de 2.33-2.67%, entre estos valores no hay mucha diferencia.

Si se compara la composición proximal de las 10 accesiones de kiwicha en base seca como se ve en Cuadro 32, con lo reportado por Sumar (1981) citado por Castro (1987) y por Repo-Carrasco (1998). Así tenemos que el porcentaje de Proteína en base seca reportado por Repo-Carrasco (1998) que es de 14.5 está dentro del rango del porcentaje de Proteína de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca que es de 13.49-15.36%, además se encuentra dentro del rango de Proteína en base seca de 13.4-19.27% reportado por Sumar (1981) citado por Castro (1987).

En cuanto al porcentaje de grasa resultó ser de 7.26-8.66% es relativamente mayor a lo reportado por Sumar (1981) citado por Castro (1987) que es de 4.4 - 6.98% y también lo es a lo reportado por Repo-Carrasco (1998) que es de 6.4%.

Con respecto al porcentaje de Extracto Libre de Nitrógeno en base seca de las 10 accesiones de kiwicha resultó ser de 70.62 – 73.28%, se encuentra dentro del rango reportado por Sumar (1981) citado por Castro (1987) que es de 61.0 – 76.28%, además el porcentaje de carbohidratos en base seca de la kiwicha cruda que reporta Repo-Carrasco (1998) que es de 71.5% también se encuentra dentro de este rango.

**Cuadro 32. Composición proximal de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca\***

Accesiones	Proteína %	Grasa %	ELN %	Fibra Cruda %	Ceniza %
T1	13.75	7.38	73.28	2.90	2.68
T2	14.51	7.26	72.77	2.69	2.76
T3	15.14	7.69	71.67	2.86	2.64
T4	13.86	7.91	73.03	2.59	2.61
T5	13.49	8.66	72.07	2.99	2.79
T6	13.71	7.79	72.71	2.87	2.92
T7	13.86	8.09	72.46	2.83	2.76
T8	13.51	8.08	72.70	2.98	2.72
T9	15.36	8.07	70.62	2.96	2.99
T10	13.98	7.65	72.81	2.87	2.69

\*Resultados obtenidos del promedio en base a tres repeticiones.

El porcentaje de Fibra Cruda en base seca de las 10 accesiones de kiwicha está comprendido entre 2.59 – 2.99%, se encuentra dentro del rango reportado por Sumar (1981) citado por Castro (1987) que es de 2.0 – 3.31%, estos resultados son bajos si lo comparamos con lo reportado por Repo-Carrasco (1998) que es de 5%.

Los resultados del porcentaje de Ceniza está comprendido entre 2.61- 2.99%, próximo a lo reportado por Repo-Carrasco (1998) que es de 2.6%.

Si se ve aparte los resultados obtenidos del Análisis de Varianza con la composición proximal en base húmeda se observa lo siguiente:

Cuando se mide el efecto de las accesiones en el contenido de Humedad resultó ser no significativo (Anexo 7-a), con lo que se puede decir que el porcentaje de humedad de las 10 accesiones son similares.

En el resultado del ANVA que mide el efecto de las accesiones en el contenido de Proteína fue significativo (Anexo 7-b), y realizando la Prueba de Tuckey para comparar las medias del contenido de Proteína de las 10 accesiones (Anexo 7-b1) se tiene que las accesiones de mayor a menor contenido de proteína son: A9, A3, A2, A10, A7, A4, A1, A6, A5, A8, formándose 3 grupos, habiendo semejanza entre las accesiones que pertenecen a cada grupo, estos son:

Grupo 1: A9, A3, A2

Grupo 2: A3, A2, A10

Grupo 3: A2, A10, A7, A4, A1, A6, A5, A8.

En el ANVA que mide el efecto de las accesiones en el contenido de Grasa resultó ser significativo (Anexo 7-c), y comparando las medias por Tuckey (Anexo 7-c1) se obtienen de mayor a menor contenido de grasa a las accesiones: A5, A7, A8, A9, A4, A6, A3, A10, A1, A2, mostrándose diferencias significativas entre las accesiones A1-A5 y A2-A5. Se formaron de esta manera 2 grupos, existiendo semejanza entre las accesiones pertenecientes a cada grupo y estas son:

Grupo 1: A5, A7, A8, A9, A4, A6, A3, A10

Grupo 2: A7, A8, A9, A4, A6, A3, A10, A1, A2

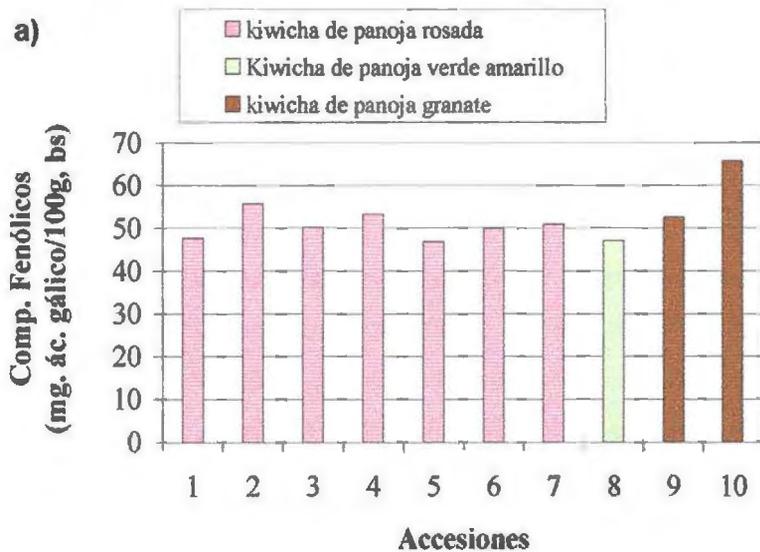
En el ANVA que mide el efecto de las accesiones en el contenido de Fibra Cruda (Anexo 7-d) y Ceniza (Anexo 7-e) resultaron ser no significativos, por lo que se puede decir que las 10 accesiones de kiwicha tienen similar contenido de fibra cruda y de ceniza.

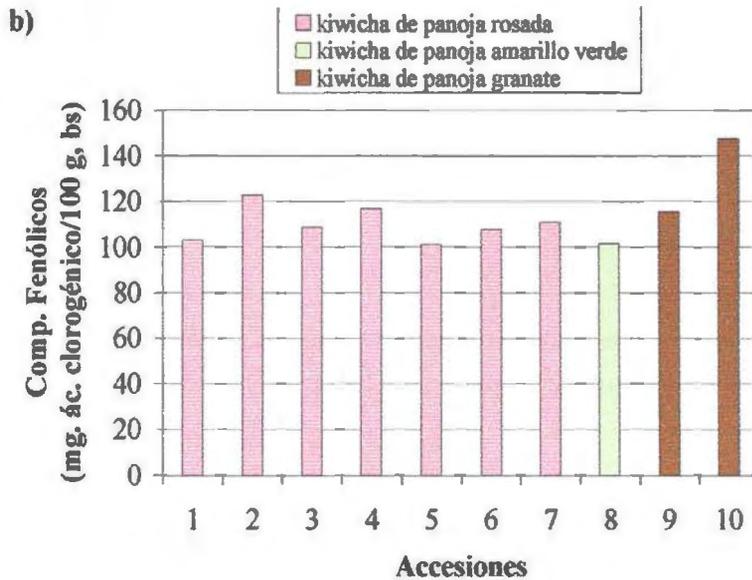
#### 4.2. Contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha cruda

Al tomarse las medidas de absorbancia a 725 nm cada 30 minutos hasta que no haya cambios significativos en la absorbancia, se observó que el tiempo que se toma en estabilizarse fluctúa entre 90 min hasta 270 min. En este caso la absorbancia va aumentando hasta que se estabiliza (Ver Anexo 8).

Se determinó el contenido de compuestos fenólicos de las 10 accesiones de kiwicha expresado en ácido gálico y en ácido clorogénico (considerando la curva estándar reportada por Aguilar (2002)). Los resultados promedios obtenidos se grafican en la Figura 13. Todos los valores obtenidos se presentan en el Anexo 9 y Anexo 10.

Figura 13. Contenido promedio de fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha expresados en a) ácido gálico y en b) ácido clorogénico en bs.





La concentración de compuestos fenólicos expresados en base seca para las 10 accesiones de kiwicha se encuentran entre 0.047% - 0.066% expresados en ácido gálico, estos resultados fueron relativamente mayores a los reportados por Klimczak, *et al.* (2002) para *Amaranthus caudatus* (0.03917%), la diferencia puede deberse a diferentes factores: tipo de accesiones, lugar de cultivo, tipo de suelo, clima, labores culturales, etc. (Yu, *et al.* 2002).

Además el contenido de fenólicos totales obtenidos en las 10 accesiones de kiwicha expresado en ácido gálico en base seca (0.047 – 0.066%) resultó ser mayor que el grano de avena (0.03%), que el grano de trigo (0.02%) y que el grano de cebada (0.04%). Sin embargo el salvado de trigo (0.1%) y el salvado de centeno (0.13%) resultaron ser mayores (Kähkönen *et al.*, 1999), como se puede apreciar en el Cuadro 26.

Comparando los resultados obtenidos para las 10 accesiones de kiwicha que se encuentran entre 100.76 - 147.17 mg ác. clorogénico/100 g en base seca fue mayor al contenido de fenólicos totales de fibra dietaria de residuos de naranja (70 mg ác. clorogénico/ 100 g en base seca), pero menor al contenido de fenólicos totales de fibra dietaria de residuos de camote (231 mg ác. clorogénico/ 100 g en base seca) (Aguilar, 2002).

Temoche (2003) reportó un contenido de fenólicos totales en 30 clones de mashua que comprenden de 585.46 – 8057.26 mg ac. clorogénico/ 100 g en base seca, estos valores son mucho mayores a los de la kiwicha.

Lister y Podivinsky (1998), presentan el contenido de fenólicos totales en algunos vegetales en base húmeda (Ver Cuadro 25), en él se puede observar que el contenido de ácidos fenólicos totales en base húmeda expresados en (mg de ác. clorogénico /100 g) del brócoli (83.1), cebolla (66.8) , tomate (28.8), papas amarillas liofilizadas (38.3), papas moradas liofilizadas (41.8), coliflor (35) y zanahoria (40.2), resultó ser menor al de las 10 accesiones de kiwicha (90.01 – 131.91).

#### **4.3. Capacidad antioxidante del grano de kiwicha**

##### **4.3.1. DPPH ( 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl)**

Los antioxidantes reaccionan con el DPPH, que es un radical libre estable y lo convierte a  $\alpha$ ,  $\alpha$ - difenil- $\beta$ -picril-hidracina. El grado de decoloración indica el potencial atrapador de los extractos antioxidantes. La actividad de los extractos es atribuida a la habilidad de donar iones hidrógeno (Singh *et al*, 2002 citado por Temoché, 2003).

Se midió la disminución de la absorbancia cada 15 minutos hasta que la absorbancia llegue a ser estable o sea la mas baja (Anexo 11) en ciertos casos se midió la disminución de la absorbancia cada 5 minutos al inicio porque algunas accesiones reaccionaban muy rápido con el DPPH.

El tiempo de reacción mas largo (hasta que se establezca) fue dada por la Accesoión A10 que fue de 435 minutos y la mas corta fue de 0 minutos por las accesiones A1, A2, A3, A5, A6, A8, A9.

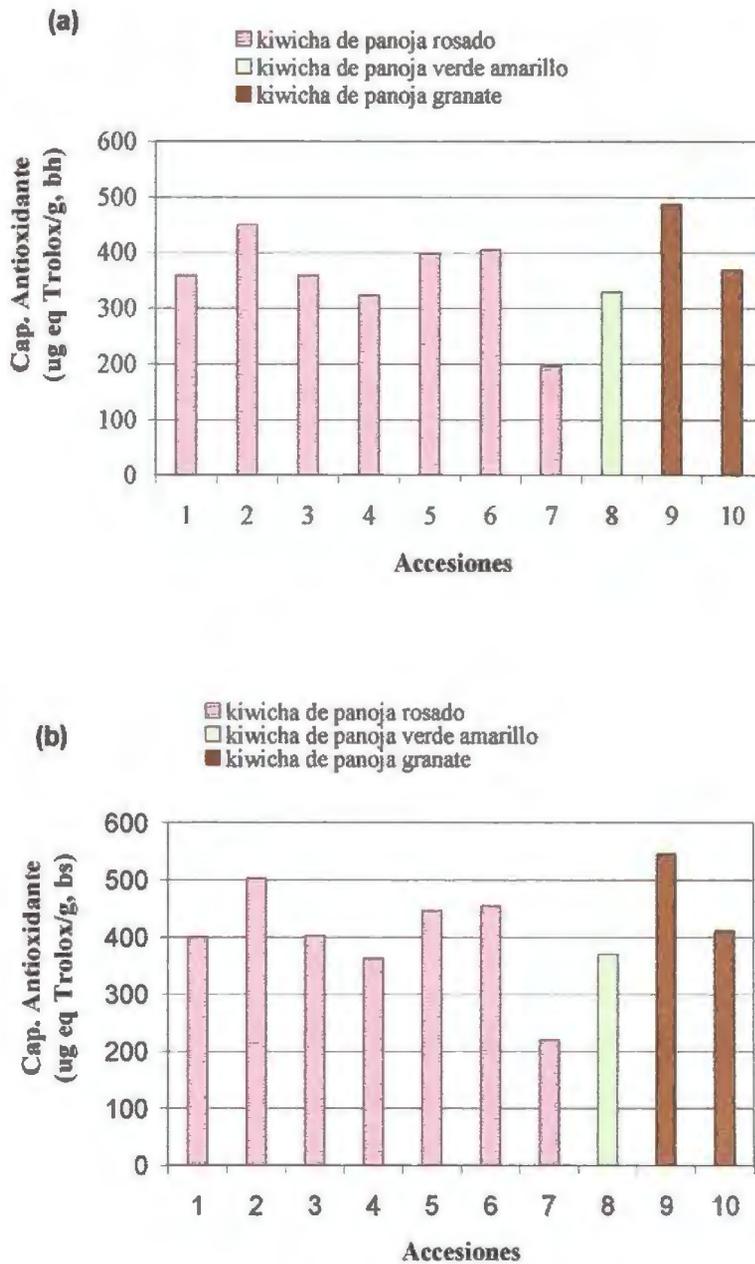
Los resultados de capacidad antioxidante expresados en  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox / g de muestra se presentan gráficamente en la Figura 14. Estos resultados son el promedio de 3 determinaciones. En el Anexo 12 se muestran los valores obtenidos.

Cabe resaltar que la capacidad antioxidante obtenida sólo representa a los compuestos hidrofílicos como son los compuestos fenólicos contenidos en la kiwicha y no los lipofílicos (como los carotenoides y tocoferoles) ya que el solvente de extracción fue el metanol, reactivo polar que no disuelve los compuestos lipofílicos. Para extraer los compuestos lipofílicos se suele utilizar el diclorometano.

Los fitoquímicos responsables de la capacidad antioxidante probablemente son los ácidos fenólicos, antocianinas y otros compuestos flavonoides (Prior y Cao, 2000).

La actividad antioxidante usualmente incrementa con un incremento en el número de grupos hidroxilos y un decrecimiento en glucosilación. Además se debe considerar que la Absorbancia del DPPH decrece por la exposición a la luz, al contenido de oxígeno, pH y tipo de solvente usado; estos factores se han de tener en cuenta para medir la capacidad antioxidante del compuesto analizado, pues de no hacerlo, ocurrirían errores en su medición (Fukumoto & Mazza, 2000).

Figura 14. Capacidad antioxidante promedio de 10 accesiones de kiwicha cruda empleando el método del DPPH a 515 nm (a) base húmeda y (b) base seca



Como se puede observar en el Cuadro 24 las accesiones de kiwicha estudiadas tienen mayor capacidad antioxidante (195.93 - 486.95  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox/g, bh) que las frutas (1.7 - 15.36), el té verde (5.2), aceite de semilla de uva (2.4), el Propolio (0.9) y el colorante en polvo de ayrampo (31.53). Más no así con las semillas de ayrampo (6946.01) y el vino rojo (3294.4 - 3821.5) según la metodología del DPPH.

#### **4.3.2. ABTS (2,2'-Azinobis- (3- ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid))**

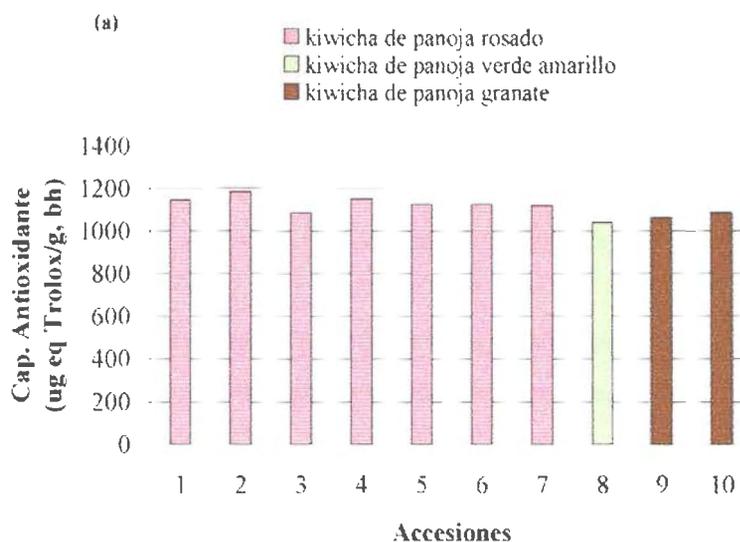
De igual forma que en el caso del método del DPPH, se evaluó la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha por triplicado. La extracción de los compuestos hidrofílicos se realizó con metanol (Ver Anexo 1). También el tiempo de medición de la disminución de la Absorbancia fue cada 15 minutos (Anexo 13) hasta que logre la estabilidad, o sea la más baja.

El tiempo total en que se logró la estabilidad fue de 180-195 minutos para la mayoría de las accesiones.

Los cálculos se detallan en el Anexo 4. Los resultados de capacidad antioxidante expresados en  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox / g de muestra se presentan gráficamente en la Figura 15. Estos resultados son el promedio de 3 determinaciones. En el Anexo 17 se muestran los valores obtenidos.

La capacidad antioxidante obtenida representa a los compuestos hidrofílicos como por ejemplo compuestos fenólicos entre otros, ya que se extrajo con metanol.

**Figura 15. Capacidad antioxidante promedio de 10 accesiones de kiwicha cruda empleando el método del ABTS a 734 nm (a) base húmeda**



Las accesiones de kiwicha tuvieron menor capacidad antioxidante (1039.69 - 1181.70  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox/g, bh) que el arándano (1784), ciruela (3244), camote morado (3167), maíz morado (4720), fresa (3039.31), semillas de ayrampo (14051.27), cáscara de camote morado (7082 - 7810), genotipo de papa nativa de cáscara y pulpa morada (3780) y un genotipo morado de mashua (9800.43), obtenidos por la metodología del ABTS como se puede observar en el Cuadro 23.

#### 4.3.3. Comparación de los resultados obtenidos por los métodos DPPH y ABTS

Para realizar la comparación de los resultados de la capacidad antioxidante para las 10 accesiones de kiwicha, se utilizó el Trólox como estándar en los métodos de DPPH y ABTS. Pues la mayoría de estudios científicos en los que se valora la actividad antioxidante ya sea de compuestos puros o de extractos vegetales utilizan el

trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil croman-2-carboxílico) como patrón, que se caracteriza por ser un análogo hidrosoluble de la vitamina E.

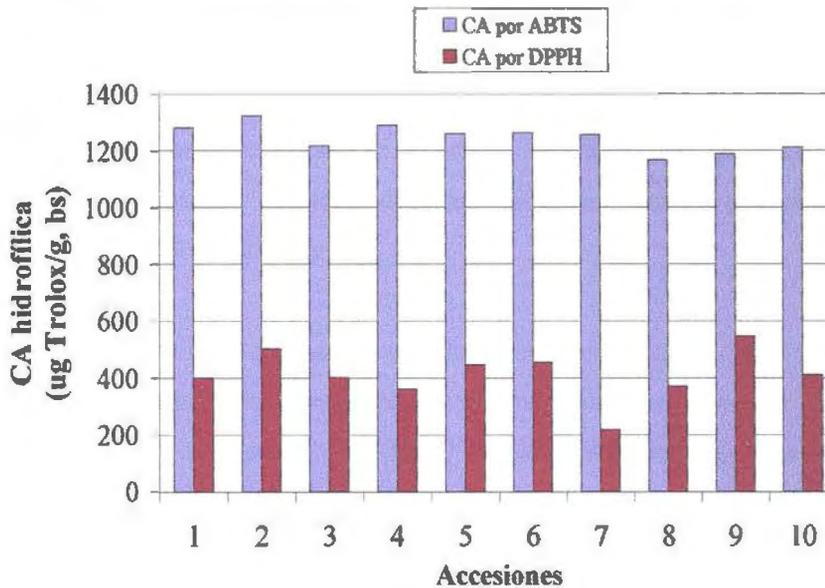
Con el fin de comparar los valores obtenidos por ambos métodos (DPPH y ABTS) se presenta el Cuadro 33 y la Figura 16, donde se ve la capacidad antioxidante promedio de las 10 accesiones de kiwicha. En este cuadro se observa que en todos los casos la capacidad antioxidante medida con el ABTS es mayor que con la del DPPH, pero los porcentajes subestimados para cada accesión son diferentes.

**Cuadro 33. Comparación de resultados de capacidad antioxidante obtenidos con los métodos DPPH y ABTS en 10 accesiones de kiwicha**

Accesiones de kiwicha	ABTS 734 nm CA Hidrofílica (ug Trolox/ g, bs)	DPPH 515 nm CA Hidrofílica (ug Trolox/ g, bs)
1	1277.78	400.15 (68.68%) <sup>a</sup>
2	1320.34	502.23 (61.96%)
3	1214.63	402.47 (66.86%)
4	1288.01	362.39 (71.86%)
5	1257.86	445.93 (64.55%)
6	1260.39	454.46 (63.94%)
7	1253.58	219.28 (82.51%)
8	1165.58	369.86 (68.27%)
9	1185.63	545.24 (54.01%)
10	1209.79	411.48 (65.99%)

<sup>a</sup> En paréntesis, el porcentaje de capacidad antioxidante subestimado respecto al ABTS calculado como  $(1 - \text{DPPH}/\text{ABTS}) * 100$ .

**Figura 16. Comparación de resultados de capacidad antioxidante obtenidos con los métodos DPPH y ABTS en 10 accesiones de kiwicha cruda, bs**



Arnao (2000) citado por Temoche (2003) afirma que tales diferencias no se deben a la curva estándar, debido a que ambos radicales cromógenos presentan la misma estequiometría con el trolox (2:1, cromógeno: antioxidante estándar), posiblemente se deba a las longitudes de onda específicas (DPPH  $\lambda= 515$  nm, ABTS  $\lambda= 734$  nm), pues en la región visible puede darse una mayor interferencia por parte de la muestra a menores longitudes de onda. Mientras más coloreada es la muestra, menor es el decrecimiento de la absorbancia y menor la capacidad antioxidante medida, aún trabajando con volúmenes mínimos de muestra (5 – 10  $\mu$ L). Menciona también que las interferencias se deben a los compuestos coloreados (antocianinas, carotenoides) con las muestras o a la aparición de reacciones secundarias entre el cromógeno y la muestra analizada.

Esto se comprueba también para el caso de la kiwicha, pues como se observa en el Cuadro 33, en algunas accesiones de kiwicha la Capacidad antioxidante medida con ABTS es hasta 82.51% mayor que la medida con el DPPH.

Esto se debería, como lo menciona Sugihara *et al.* (1999), a que el ABTS y el DPPH son poderosos radicales acuosos y actúan químicamente en forma similar, reduciéndose al aceptar un átomo de hidrógeno donado por los grupos hidroxilos unidos al núcleo del flavonoide.

En un estudio realizado por Leong and Shui (2002), encontraron que la mayoría de las frutas (ciruela, fresa, frambuesa, etc) que mostraron una alta Capacidad antioxidante por el método de ABTS, también mostraron una alta capacidad antioxidante con el método del DPPH en sistemas agua/etanol y son métodos parecidos.

El conocimiento del potencial antioxidante de los compuestos presentes en los alimentos, no es necesariamente un indicativo de su capacidad antioxidante. Más aún, el efecto sinérgico que podría existir entre diferentes antioxidantes significaría que el efecto total antioxidante puede ser mayor que la suma de sus actividades antioxidantes individuales y que el aislamiento de un compuesto no reflejaría la actividad total del alimento. Además hay muchos diferentes compuestos antioxidantes en tejidos de plantas y animales, lo que dificultaría la medición de cada compuesto antioxidante por separado (Leong and Shui, 2002 citado por Temoche, 2003).

Además se realizó un Analisis de Variancia (ANVA) (Anexo 18) en base a un DCA con arreglo factorial AxB donde el Factor A= Accesiones, Factor B= Método de Capacidad antioxidante (ABTS o DPPH).

Así resultó que no existe un efecto significativo para la interacción entre la accesión y el método de capacidad antioxidante utilizado.

Cuando se analiza los efectos de los factores por separado para el Factor A: Accesiones, se obtuvo que la capacidad antioxidante es semejante para cada accesión. El orden de mayor a menor Capacidad antioxidante (ug eq Trolox/g tejido, bs) se encuentra en el Cuadro 34.

De esta manera se escogió las 5 primeras accesiones con mayor Capacidad antioxidante: A2, A9, A6, A5 y A1.

**Cuadro 34. CA (promedio entre 3 repeticiones de DPPH y 3 repeticiones de ABTS) en ug Eq Trolox/g muestra, bs, ordenado de mayor a menor.**

Orden	Accesión	CA Promedio (ug Eq Trolox/g, bs)
1°	A2	911.28
2°	A9	895.43
3°	A6	857.43
4°	A5	851.89
5°	A1	838.96
6°	A4	825.20
7°	A10	810.64
8°	A3	808.55
9°	A8	767.72
10°	A7	736.43

En cuanto al efecto del Factor B: Método de Capacidad antioxidante (DPPH ó ABTS) resultó que existe diferencias significativas en la capacidad antioxidante entre los 2 métodos empleados. Aplicando la Prueba de T se confirmó lo que anteriormente a simple vista se veía, que la capacidad antioxidante promedio es mayor con el método de ABTS que con el método del DPPH.

#### **4.3.4. Relación entre la CA por ABTS y la CA por DPPH**

El objetivo de medir la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha por los 2 métodos fue comparar los resultados obtenidos. Para ello se realizó un análisis estadístico de Regresión lineal en el cual se llegó a la conclusión que el efecto de la regresión lineal de la capacidad antioxidante medida por el método del ABTS sobre la capacidad antioxidante medida por el método del DPPH de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca es no significativo, con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.000207$ , lo que significa que el 0.021% de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida por el método del ABTS es explicada por la CA medida por el método del DPPH de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca. Con un coeficiente de correlación  $R=0.014$ , lo que quiere decir que existe un 1.4% de asociación entre las dos variables: CA medida por el método del ABTS y CA medida por el método del DPPH de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca (Anexo 19).

De igual manera se realizó una Regresión lineal en el cual se llegó a la conclusión que el efecto de la regresión lineal de la capacidad antioxidante medida por el método del DPPH sobre la capacidad antioxidante medida por el método del ABTS de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca es no significativo, con un coeficiente de determinación  $R^2 = 0.000207$  y un coeficiente de correlación  $R=0.014$  (Anexo 20).

#### **4.3.5. Relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de compuestos fenólicos totales**

Se hizo un análisis estadístico con el objetivo de determinar si existe una relación entre la capacidad antioxidante medida por ambos métodos (DPPH o ABTS) y los compuestos fenólicos en las 10 accesiones de kiwicha cruda.

Los resultados se presentan en el Anexo 21 y 22 llegando a la conclusión de que el efecto de la regresión lineal de la capacidad antioxidante medida mediante el método del DPPH sobre el contenido de fenólicos totales es no significativo con un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.016. Lo que significa que el 1.6% de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida mediante el método del DPPH es explicada por el contenido de fenólicos totales. Y un coeficiente de correlación  $R=0.13$  lo que quiere decir que existe un 13% de asociación entre las dos variables: capacidad antioxidante medida mediante el método del DPPH y el contenido de fenólicos totales de las 10 accesiones de kiwicha Y que el efecto de la regresión lineal de la capacidad antioxidante medida mediante el método del ABTS sobre el contenido de fenólicos totales es no significativo con un coeficiente de determinación  $R^2$  de 0.00000714516. Lo que significa que el 0.000714 % de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida mediante el método del ABTS es explicada por el contenido de fenólicos totales. Y un coeficiente de correlación  $R= 0.00267$  que significa que existe un 0.3% de asociación entre las dos variables: capacidad antioxidante medida mediante el método del ABTS y el contenido de fenólicos totales de las 10 accesiones de kiwicha. Algo similar ocurrió cuando Yu *et al.* (2002) evaluaron la capacidad antioxidante de tres variedades de trigo duro, empleando los radicales (DPPH●) y (ABTS<sup>+</sup>●) para medir el efecto de secuestro de radicales libres, hallando diferencias en las respuestas obtenidas, mas no

observaron correlación entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las muestras.

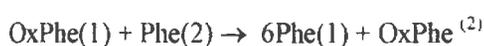
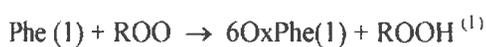
Sin embargo en otros estudios ha existido una fuerte correlación entre CA y polifenoles totales (Cao *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 1996; Prior *et al.*, 1998 citados por Kaur & Kapoor, 2001).

Se deduce entonces que la capacidad antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha, no solo se debe a los compuestos fenólicos, sino a otros compuestos hidrosolubles como ácido ascórbico, o liposolubles como vitamina E y A, además de fitatos y taninos que solos o en unión a los compuestos fenólicos pueden aumentar su CA hidrofílica, aunado a esto se puede decir que los flavonoides también pueden actuar como prooxidantes, como lo señala Pérez (2003), debido a diferentes factores como: las condiciones de ensayo, la concentración efectiva que se alcance en el sitio donde las especies reactivas de oxígeno (ERO) es formada, la estabilidad del radical del flavonoide formado al donar un átomo de hidrógeno al radical atacante, la lipofílicidad para ser captados por la membrana y el pH del medio. Aunque se ha demostrado *in vitro* que muchos flavonoides tienen CA mucho más fuerte que la Vitamina C y E (Prior and Cao, 2000).

También se debe tomar en cuenta para que exista sinergismo entre 2 antioxidantes es necesario que el efecto antioxidante de la combinación de ellos sea mayor que la suma de los efectos causados por estos compuestos por separado (Pineda *et al.*, 1999).

Hernández y Prieto (1999), recomiendan que mientras no se conozcan las proporciones óptimas de las mezclas es mejor consumir los polifenoles a partir de sus fuentes naturales y no de forma aislada, por el hecho de que muchos de estos compuestos fenólicos funcionen mejor en mezclas permite suponer que en

condiciones en que se encuentran varios de estos compuestos con diferente actividad antioxidante, los muy reactivos sean los que reduzcan a los radicales más activos como el alcoxilo y lipoperóxido, mientras que otros menos activos actúen regenerando los de “primera línea” Phe(1).



Cuando esto no ocurre los Phe(1) pueden ser agotados y la capacidad antioxidante total disminuye. De esta manera la medición de los antioxidantes individuales por separado no permite conocer con certeza la capacidad antioxidante total de un fluido biológico por los efectos sinérgicos que puedan establecerse entre los antioxidantes presentes en el.

#### 4.4. Contenido de fitatos de la kiwicha cruda

En el Cuadro 35 se muestra los resultados del contenido promedio de fitatos en la accesión 2 de kiwicha, por ser la que tenía mayor capacidad antioxidante. Los valores se presentan en el Anexo 23.

**Cuadro 35. Contenido de fitatos en el grano de kiwicha cruda**

Accesión	Fitatos (%), bh	Fitatos(%), bs
2	0.6767 ± 0.09	0.7560 ± 0.1

Este contenido de ácido fítico en el grano de kiwicha es ligeramente mayor al reportado por Mazza (2000) para el amaranto (0.34 - 0.61%) que es mayor que el del arroz (0.10 - 0.14%) pero menor que el del maíz y trigo. Además es mayor al garbanzo (0.55%), lentejas (0.70%), castaña (0.11%), coco (0.26%), café (0.47%), nuez de palma (0.26%), cártamo (0.70%), habas verdes (0.42%), arverjas verde (0.42%) y choclo (0.25%), la mayoría de las pulpas de frutas con semillas excepto: manzana (1.37%), pepino (1.07%), berenjena (1.42%), melón (1.79%), papaya (1.44%), peras (1.29%), pimienta (1.39%), fresa (1.12%), tomate (1.66%), sandía (1.30%), como se puede observar en el Cuadro 29.

#### 4.5. Compuestos fenólicos totales del grano de kiwicha tostada

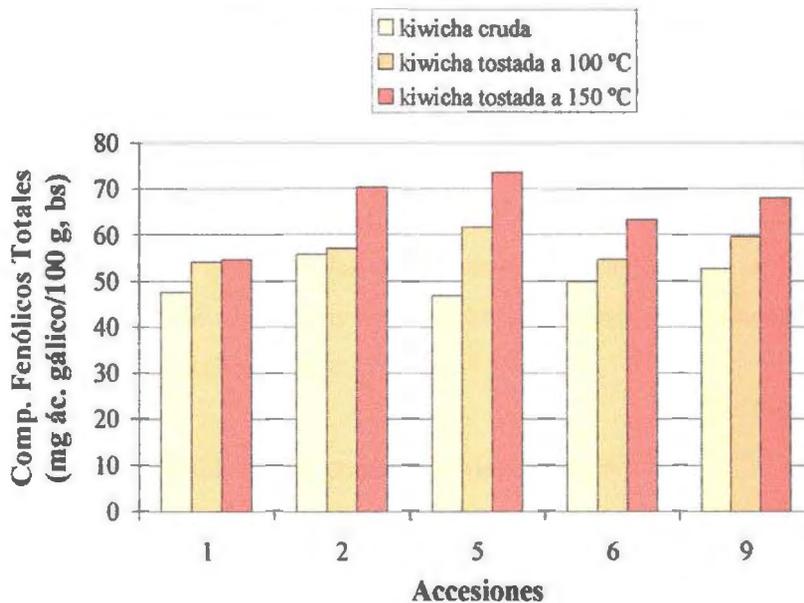
El contenido de fenólicos totales (promedio de 3 repeticiones) de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100 °C y 150°C se puede observar en el Cuadro 36 y en el Anexo 24 y 25.

**Cuadro 36. Contenido de fenólicos totales (mg de equiv. de ácido gálico /100 g de muestra) de las 5 accesiones de kiwicha cruda, tostada a 100 °C y a 150 °C**

Accesiones	Fenólicos totales (bh)			Fenólicos Totales (bs)		
	Crudo	100°C	150°C	Crudo	100°C	150°C
1	42.67	48.49	49.01	47.59	54.09	54.67
2	49.84	51.03	62.91	55.68	57.01	70.29
5	41.84	55.06	65.67	46.84	61.64	73.51
6	44.31	48.72	56.33	49.74	54.69	63.24
9	47.00	53.27	60.67	52.62	59.65	67.93

Observándose un aumento del contenido de fenólicos totales (bs) debido al tostado de la kiwicha cruda a la kiwicha tostada a 100 °C que varía de 2.39% a 31.60%. También hubo un aumento de compuestos fenólicos totales (bs) de la kiwicha tostada a 150°C comparándola con la kiwicha tostada a 100 °C que va de 1.07% a 23.29%, lo mismo ocurrió cuando se comparó la kiwicha tostada a 150 °C con respecto a la kiwicha cruda, hubo un aumento de 14.88%- 56.94%, como se puede observar en la Figura 17.

**Figura 17. Contenido de fenólicos totales (mg de equiv. de ácido gálico /100 g de muestra) de las 5 accesiones de kiwicha cruda, tostada a 100 °C y 150 °C**



El tratamiento térmico influye positivamente en los compuestos fenólicos totales debido probablemente a que se producen productos pardos de la reacción de Maillard que incluyen polímeros solubles e insolubles mayormente azúcares reductores unidos a aminoácidos o proteínas y otros compuestos nitrogenados que hace a la lisina indisponible.

Además que debido al calentamiento se pueden producir uniones entre los compuestos fenólicos en forma de aglicona y carbohidratos o proteínas, además también podría suceder que la lignina que es un compuesto fenólico, como lo refiere Saura-Calixto & Jiménez-Escrig (2001), con el tostado se desdobla y se forman otros compuestos fenólicos que se unen a otros compuestos como carbohidratos y proteínas lo que harían aumentar el porcentaje de compuestos fenólicos totales.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ANVA con DBCA se puede afirmar que en promedio el contenido de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada a 100°C o 150°C no son semejantes, siendo el contenido de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha cruda menor al contenido promedio de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostada a 100°C y este menor al contenido promedio de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha a 150°C y además el contenido de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha cruda es menor al contenido promedio de compuestos fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostada a 150°C. El contenido promedio de compuestos fenólicos totales de cada una de las accesiones son semejantes entre si (Anexo 26).

#### **4.6. Capacidad antioxidante del grano de kiwicha tostada**

La capacidad antioxidante del grano de kiwicha tostada se puede observar en el Cuadro 37 y Anexo 28 y 30 y su análisis de varianza (ANVA) en base a un DBCA con arreglo factorial A x B donde el Factor A: Temperatura de tostado, Factor B: Metodología para hallar la capacidad antioxidante (DPPH o ABTS) (Anexo 31), dando como resultado que no existe efecto significativo para la interacción Temperatura de tostado y la metodología (DPPH o ABTS) usada para determinar la capacidad antioxidante de la kiwicha tostada.

Analizando los efectos por separado de cada factor se tiene que la capacidad antioxidante de las accesiones de kiwicha a la temperatura cruda, de tostado a 100 °C y a 150°C son semejantes; pero la capacidad antioxidante de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada no son semejantes ya sea con la metodología DPPH o ABTS. Además se puede afirmar que la capacidad antioxidante promedio de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada es significativamente menor con la metodología del DPPH que con la metodología del ABTS y si analizamos por bloques (accesiones) se puede afirmar que la capacidad antioxidante de las diferentes accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada son semejantes. (Anexo 31).

**Cuadro 37. Capacidad Antioxidante ( $\mu\text{g}$  Equiv. Trolox/g de muestra, bs) de las 5 accesiones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y 150°C**

Accesiones	Temperatura de Tostado (°C)					
	Crudo		100°C		150°C	
	DPPH	ABTS	DPPH)	ABTS	DPPH	ABTS
1	400.15	1277.78	358.37	941.52	509.42	902.17
2	502.23	1320.34	436.22	1147.68	530.4	1222.03
5	445.93	1257.86	454.8	1462.34	485.44	1425.34
6	454.46	1260.39	460.12	1387.23	450.41	1452.4
9	545.24	1185.63	468.62	1208.14	486.36	1376.65

Sin embargo la CA de la kiwicha cruda disminuyó en un 7.25% al ser tostada a 100°C y aumentó en 4.63% al ser tostada a 150°C, .la kiwicha tostada a 100°C aumentó su CA en 11.5% al ser tostada a 150°C. Con respecto a esto, Larrauri *et al.* (1997), citado por Kaur & Kapoor (2001) mencionan que la temperatura de secado de 100°C

y 140°C resultó en una reducción en taninos condensados y extraíbles resultando en un decrecimiento de 28 – 50% en la CA en piel de uva roja.

Recientes investigaciones sugieren que los productos de la Reacción de Maillard (MRPs) formados como consecuencia del tratamiento de calor intenso o almacenamiento prolongado, generalmente exhiben fuertes propiedades antioxidantes, generalmente rompiendo la cadena y la actividad secuestrante de Oxígeno (Kaur & Kapoor, 2001).

Un aspecto positivo de la reacción de Maillard es que alguno de sus productos, especialmente las reductonas tienen actividad antioxidante. Se debe a su poder reductor y a su capacidad de quelar metales como Cu y Fe, que son prooxidantes. Las aminorreductonas formadas en la reacción de las triosarreductonas con aminoácidos como glicina, metionina y valina tienen gran actividad antioxidante (Fennema, 2000).

De acuerdo a la literatura, la actividad antioxidante de los MRPs puede ser principalmente atribuido al alto peso molecular de los compuestos pardos, los cuales se van formando cuando avanza la reacción. Mientras que un decrecimiento en el potencial antioxidante fue encontrado para tratamientos de calor corto, una mejoría de estas propiedades fue encontrado durante tratamientos de calor prolongados (Kaur & Kapoor, 2001).

La reducción inicial en la actividad antioxidante puede ser atribuida no solamente a la degradación térmica de los antioxidantes, pero también a la formación de MRPs tempranamente con propiedades pro-oxidantes. La ganancia en actividad antioxidante coincidió con la formación de MRPs pardos (Kaur & Kapoor, 2001).

#### 4.7. Contenido de fitatos en el grano de kiwicha tostada

El contenido de fitatos en la accesión de kiwicha tostada a 100 °C y 150°C se muestran en el Cuadro 38 y Anexo 32 y 33.

Se puede observar que el contenido de fitatos de la kiwicha cruda fue de 0.756%, la misma que disminuyó cuando se realizó el tostado a 100°C en un 47%, siendo su contenido de fitatos de 0.4022%, esto puede deberse a que la fitasa, enzima presente en el cereal, que se activa a un pH de 4- 7.5 y a 45-60°C, haya realizado la hidrólisis del fitato a Inositol tetrafosfato (IP4), Inositol trifosfato (IP3), Inositol difosfato (IP2) e Inositol monofosfato (IP1), los cuales no quelan tanto los minerales como se refiere Phillipy *et al.*,(1988) citado por Grases *et al.*, por lo que estos compuestos no se unirían al Fe de acuerdo al análisis que se realizó, lo que haría que disminuya el contenido de fitato a 100°C.

**Cuadro 38. Contenido de fitatos (%) de la accesión 2 de kiwicha tostada a 100 °C y 150°C (bh y bs)**

Base	Cruda	Tostada a 100°C	Tostada a 150°C
b.h.	0.6767 ± 0.09	0.36 ± 0.01	0.3637 ± 0.01
b.s.	0.7560 ± 0.1	0.4022 ± 0.01	0.4097 ± 0.006

El análisis que se realizó para la determinación del contenido de fitatos por titulación complexométrica de Fe (III), no es muy preciso, ya que podría haberse sobreestimado el contenido de fitatos, debido a que durante el análisis se haya formado complejos entre polifenoles de la kiwicha y el Fe de la solución Fe (III), lo que haría que el Fe excedente que es el titulado por el EDTA sea menor. Además el ácido fítico puede unirse también al almidón, bien directamente a través de puentes de hidrógeno o indirectamente mediante las proteínas a las que se asocia (Martínez *et al.*, 2002).

Además a pH por debajo del punto isoeléctrico de las proteínas, estas se encuentran cargadas positivamente y el ácido fítico negativamente, en estas condiciones se produce una fuerte interacción electrostática entre grupos amino terminal de la proteína, y ésteres fosfato aniónicos del ácido fítico, formándose un complejo binario. En los Análisis estadísticos en el Anexo 34. se puede observar que el contenido de fitatos promedio (%) de la accesión 2 de kiwicha no es semejante ya sea crudo o tostada a 100 °C o 150°C.

Se puede afirmar que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha cruda es mayor que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 100°C y que a 150°C. Sin embargo, el contenido de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 150°C es semejante al contenido de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 100°C, aunque hubo un pequeño aumento de 1.83% en el último debido probablemente a los productos de reacción de Maillard, que actúan como fenólicos con CA, y de esta manera pueda haberse sobreestimado aunque en un pequeño porcentaje el contenido de ácido fítico.

Además, según VTT (2001), los métodos de procesamiento de alimentos que requieren calor, como el que se emplea para obtener cereales de desayuno a base de salvado, destruye casi todos los fitatos. Para la mayoría de la gente, las dosis de fitatos presentes en su dieta no representa un problema, pero aquellas personas que ingieren grandes cantidades de cereales integrales pueden necesitar complementos de minerales, debido a su alto potencial quelante que forma sales insolubles a pH neutros con numerosos cationes di y trivalentes (Ca, Mg, Zn, Cu, Co, Fe, Mn) (Sauveur, 1989). Así la ingesta de 2 g de fitatos por día no afecta el balance mineral cuando el consumo de minerales es adecuado.

#### 4.8. Digestibilidad *in vitro* de proteína de la kiwicha tostada

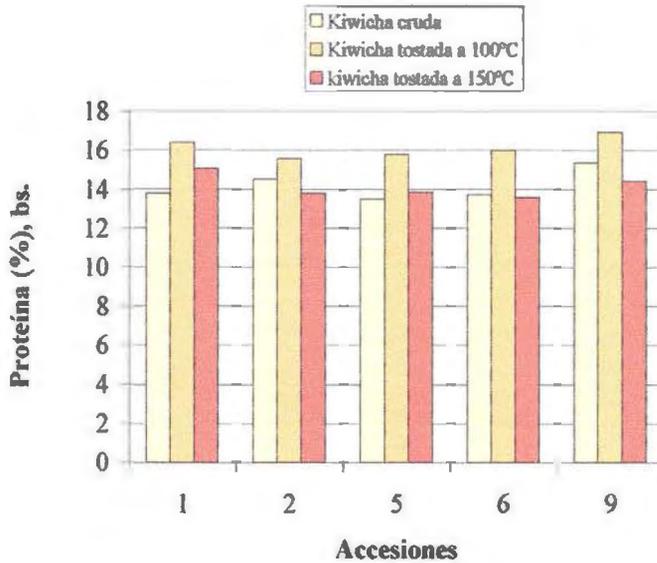
Cereales y leguminosas son generalmente conocidos por contener varios factores antinutricionales que negativamente afectan su calidad nutricional. Los compuestos polifenólicos y fitatos son entre estos factores antinutricionales los más abundantemente distribuidos en cereales y leguminosas. La presencia de compuestos fenólicos, particularmente taninos condensados han sido asociados con la más baja biodisponibilidad de minerales, proteínas y carbohidratos. Estos compuestos forman complejos con nutrientes de alimentos, haciéndolos menos soluble o menos susceptible a la degradación enzimática y por ende menos disponible para su absorción (Towo *et al.*, 2003).

La mayoría de estructuras fenólicas con propiedades antinutricionales incluyen configuraciones tales como catechol, resorcinol y anillos galloyl. Estos grupos fenólicos de granos de cereales y leguminosas pueden tener diferentes efectos antinutricionales dependiendo de su estructura y puede ser afectado diferentemente por los métodos de procesamiento de los alimentos. Los fenólicos galloyl y catecol han sido mostrados por disminuir la biodisponibilidad de hierro en los alimentos (Towo *et al.*, 2003).

Towo *et al.* (2003) demostraron que la cocción en agua por ebullición de granos fue más efectivo para reducir el total de fenólicos extraíbles en cereales que por germinación y remojo en agua, mientras que el descascarado fue el método mas efectivo para reducir los fenólicos extraíbles en leguminosas.

Previo a la determinación de la digestibilidad *in vitro* de proteína se obtuvo el porcentaje de proteína de la kiwicha tostada a 100°C y 150°C como se observa en la Figura 18. Todos los valores obtenidos se presentan en el Anexo 35 y 36.

**Figura 18.** Contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y a 150°C en bs.



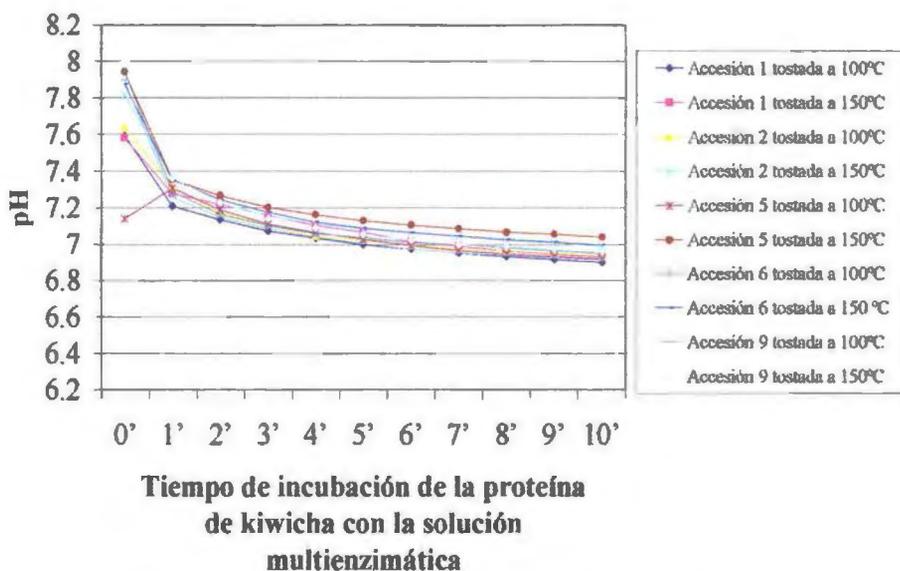
En el siguiente Cuadro 39 y Anexo 37 y 38 se observa la digestibilidad *in vitro* de proteína de las 5 accesiones de kiwicha (que tuvieron mayor capacidad antioxidante en crudo) tostada a 100°C y a 150°C, según el método que se muestra en el Anexo 6.

**Cuadro 39.** Digestibilidad *in vitro* de proteína (promedio de 3 repeticiones) de 5 accesiones de kiwicha tostada (%)

Accesiones	Base húmeda		Base seca	
	100°C	150°C	100°C	150°C
1	85.55	85.01	95.43	94.82
2	84.83	83.98	94.78	93.84
5	85.19	83.02	95.36	92.93
6	84.65	83.80	95.02	94.08
9	85.31	84.40	95.52	94.50

En el Anexo 39 se puede ver como el pH de la solución multienzimática con las muestra de kiwicha va disminuyendo cada minuto hasta los 10 minutos, lo que también se observa en la Figura 19.

**Figura 19. pH versus tiempo de incubación de la proteína de kiwicha con la solución multienzimática**



Para ver si existían diferencias significativas entre la digestibilidad *in vitro* de proteína de la kiwicha tostada a 100°C y a 150°C se realizó un ANVA con DBCA, en la que se llegó a la conclusión que la digestibilidad *in vitro* de proteína (%) de las accesiones de kiwicha tostada a 100°C y a 150°C no son semejantes, siendo menor con la T° de tostado de 150°C que con 100°C. (Anexo 40).

Según Avanza y Añón, los granos de amaranto contienen dentro de la proteína: albúminas (49-65%), globulinas (22-42%) y glutelinas (14-18%), la mayoría de estas proteínas son de estructura terciaria lo que según Cheftel y Cheftel (1998) citados por Delgado (2002) es un factor muy importante ya que impide que las enzimas

proteolíticas ataquen a la proteína, es por eso que su digestibilidad de la kiwicha cruda según Duarte *et al.* (1986) fue de 61 – 76%, debido también probablemente a los factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina, taninos condensados, etc.

Por esto con el tostado a 100°C mejoró su digestibilidad, ya que se produjo una desnaturalización de la proteína lo que se logra a temperaturas mayores a 60°C, y ruptura de la estructura terciaria, además que el calor destruye los factores antifisiológicos termolábiles como los inhibidores de tripsina, hemaglutininas, bociógenos, entre otros.

La digestibilidad de las 5 accesiones de kiwicha tostada de 100°C a 150°C disminuyó hasta en 1.1%, debido probablemente a que el calor excesivo reduce la disponibilidad de lisina y aminoácidos azufrados (Bressani, 1991 citado por Delgado, 2002). Además Imeri *et al.* (1987) indica que las harinas de *Amaranthus caudatus* que previamente han sido cocidas de 0 a 60 min, no contenían inhibidores de tripsina y el contenido mínimo de taninos expresado como catequina, desaparecía después de 30 min de cocción, en nuestro caso, las kiwichas sólo tuvieron un tiempo de tostado de 15 segundos, por lo que no se puede asegurar que los taninos hayan desaparecido.

#### **4.9. Relación entre la digestibilidad *in vitro* de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales**

Una de las propiedades más conocidas de los compuestos fenólicos es su capacidad para unirse y precipitar las proteínas de la dieta, endógenas y de enzimas. Los complejos insolubles polifenol-proteína pasan sin alteración por el tracto gastrointestinal, siendo excretados por heces y por tanto reduciéndose la digestibilidad de proteínas (Saura-Calixto & Jiménez-Escrig, 2001).

Se hizo un análisis estadístico con el objetivo de determinar si existe una relación entre la digestibilidad *in vitro* de proteína y los compuestos fenólicos de la kiwicha tostada.

Llegando a la conclusión de que el efecto de la regresión lineal de la digestibilidad *in vitro* de proteína sobre el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C es no significativo con un  $R^2$  de 0.1031, con un coeficiente de correlación  $R= 0.32$ , que significa que existe un 32% de asociación entre las dos variables: digestibilidad *in vitro* de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C en base seca. Los resultados se presentan en el Anexo 41.

Y que el efecto de la regresión lineal de la digestibilidad *in vitro* de proteína sobre el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 150°C es no significativo con un  $R^2$  de 0.6631 y con un coeficiente de correlación  $R= 0.81$ , lo que quiere decir que existe un 81% de asociación entre las dos variables: digestibilidad *in vitro* de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 150°C en base seca. Los resultados se presentan en el Anexo 42.

## V.- CONCLUSIONES

1. Las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda presentaron una humedad de 10.35%-10.92%, proteína de 12.05% - 13.72%, grasa: 6.50%-7.74%. ELN: 63.07% - 65.70%, Fibra Cruda: 2.31%-2.67%.
2. Las 10 accesiones de kiwicha cruda presentaron un contenido de compuestos fenólicos totales de 0.047% - 0.066% expresado en ácido gálico en bs y de 0.101% a 0.15% expresado en ácido clorogénico en bs.
3. La capacidad antioxidante hidrofílica promedio de las 10 accesiones de kiwicha cruda obtenida por el método del DPPH fue de 219.28 – 545.24  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox/g, bs., y por el método de ABTS fue de 1165.58 – 1320.34  $\mu\text{g}$  equivalente Trolox/g, bs.
4. La capacidad hidrofílica medida por el método del ABTS de las 10 accesiones de kiwicha cruda es significativamente mayor que con el método del DPPH, hasta en 82.5%, no existiendo regresión lineal entre la capacidad antioxidante por el método del ABTS y la capacidad antioxidante por el DPPH y viceversa.
5. No existe regresión lineal entre la capacidad antioxidante medida por el método del DPPH y el contenido de fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha cruda y tampoco entre la capacidad antioxidante por el método del ABTS y el contenido de compuestos fenólicos totales en las 10 accesiones de kiwicha cruda.
6. La capacidad antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha cruda fueron semejante para cada accesión, sin embargo se escogieron las 5 accesiones de

kiwicha que tuvieron mayor capacidad antioxidante, las que fueron de panoja erecta: 87-25-I, EC-K CCA-051, EC-K CCA-062, ECOTIPO 2009 y Taray 90.

7. El contenido de fitatos en promedio de la accesión 87-25-I de kiwicha cruda en base seca, tostada a 100°C y a 150°C fueron: 0.7560%, 0.4022% y 0.4097% respectivamente, habiendo semejanza entre los valores de las 2 últimas.
8. El contenido de compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C fueron de: 0.054% - 0.062% y de 0.055% - 0.073% respectivamente, expresado en ácido gálico, siendo significativamente mayor las tostadas a 150°C, luego las de 100°C y por último las kiwichas crudas.
9. La capacidad antioxidante de las 5 accesiones tostada a 100°C por el método de DPPH fue 358.37 - 468.62 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y por el método del ABTS fue de 941.52 - 1462.34 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y a 150°C por el método del DPPH fue de 450.41 - 530.4 ug equiv. trolox/g de muestra en bs, y por el método del ABTS fue de 902.17 - 1452.4 ug equiv. trolox/g de muestra en bs.
10. La capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha cruda y tostada a 100°C y a 150°C son semejantes, siendo mayor con el método del ABTS que con el DPPH.
11. La digestibilidad *in vitro* de proteína, en base seca, de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C fue de 94.78 - 95.52 % y de la kiwicha tostada a 150°C fue de 92.93- 94.82%.

12. La digestibilidad *in vitro* de proteína, en base seca, de las 5 accesiones de kiwicha tostada es significativamente mayor en la kiwicha tostada a 100°C que a 150°C.
13. No existe regresión lineal de la digestibilidad *in vitro* de proteína sobre el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C ni a 150°C.
14. Se puede concluir que las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C es mejor en *digestibilidad in vitro* de proteína, semejante en fitatos y en capacidad antioxidante, y menor en compuestos fenólicos que las 5 accesiones de kiwichas tostadas a 150°C.

## VI.- RECOMENDACIONES

1. Medir la capacidad lipofílica de la kiwicha y utilizar otros tipos de solventes para extraer al máximo los principios activos de la kiwicha.
2. Determinar los compuestos fenólicos que se encuentran en la kiwicha ya sea por HPLC o RMN, ya que de eso depende su actividad antioxidante y sus características farmacológica para el hombre.
3. Realizar ensayos *in vivo* para determinar el efecto real de la capacidad antioxidante en animales o en seres humanos y ver el efecto contra ciertas enfermedades: coronarias, cáncer, diabetes, hipercolesterolemia.
4. Realizar evaluaciones similares en otros tipos de procesamiento de la kiwicha (popeada, extruida, en hojuelas, hervida, fermentada, etc).
5. Realizar pruebas de la kiwicha como antioxidante para uso en alimentos.
6. Extraer los compuestos fenólicos de la kiwicha y caracterizarlos
7. Determinar la actividad antioxidante de estos compuestos fenólicos por separado, así como su combinación para ver los efectos sinérgicos que puedan existir.
8. Realizar análisis de taninos condensables e hidrolizables, saponinas, carotenos y vitamina E en la kiwicha cruda y procesada.
9. Determinar el contenido de amarantina en diferentes accesiones de kiwicha antes y después de germinar y analizar su actividad antioxidante.

10. Divulgar estas investigaciones que muestran a la kiwicha como un alimento estupendo en capacidad antioxidante y polifenoles para generalizar su hábito alimenticio en diferentes formas de procesamiento.

## VII.- BIBLIOGRAFIA

1. A.O.A.C. (Association of Official Analytical Chemists). 1995. Official Methods of Analysis. 16<sup>th</sup> Edition Vol 2. USA.
2. AGTE, V.V.; TARWADI, K.V. & CHIPLONKAR, S.A. 1999. Phytate degradation during tradicional cooking: significance of the phytic acid profile in cereal-based vegetarian meals. *Journal of Food Composition and analysis* 12: 161-167.
3. AGUILAR, A. 2002. Caracterización fisico-química de fibra y mezclas de fibra dietaria obtenidas a partir de residuos de naranja (*Citrus sinensis*), salvado de cebada (*Hordeum vulgare*) y cáscara de camote (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Tesis para optar el grado de Magister Scientiae en tecnología de alimentos. UNALM. Lima-Perú. 134 p.
4. APARCANA, S. 1999. Elaboración y evaluación de galletas dulces con sustitución parcial de harina de trigo por harina de kiwicha malteada. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 131 p.
5. APAZA, V. 1996. Evaluación de cuatro especies de amaranto granífero sometidas a cuatro densidades de cultivo (Sella Cercado-Tarija). Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija-Bolivia. 126 p.
6. ARAYA H, y LUTZ, M. 2003. Alimentos funcionales y saludables. *Revista Chilena de Nutrición*. 30(1): 1 – 10.
7. AVANZA, M. y AÑÓN, M.C. Modificaciones de las proteínas de amaranto por tratamiento térmico. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura-UNNE, Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos (CIDCA) Argentina.

8. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. and BERSET, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 28:25-30.
9. BRENES, J. Los enzimas en Nutrición Porcina y (II). Instituto de Nutrición y Bromatología (CSIC), Facultad de Farmacia. Madrid.
10. BRESSANI, R. 1992. El tamaño del grano de amaranto, una desventaja significativa en la producción agrícola comercial. In: *El Amaranto y su potencial*. (Traducción del Inglés) Boletín No. 2-3-4 (Junio-diciembre). Editor General Dr. Ricardo Bressani, 15 p.
11. CASTRO, C. 1987. Procesamiento de la kiwicha (*Amaranthus caudatus*) por el método de expansión por explosión. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 134 p.
12. COLLAZOS, C.; ALVISTUR, E.; VASQUEZ, J.; QUIROZ, A.; HERRERA, N.; ROBLES, N.; ARIAS, M.; VIÑAS, E.; URQUIETA, R.; DÍAS, C.; ROCA, A.; FACHING, A.; HERNÁNDEZ, E. 1996. Tablas peruanas de composición de alimentos. Séptima Edición. Lima Perú. 86 p.
13. CHAVEZ, J.; CHIRE, T. y LOAYZA, L. 2003. Guía de Práctica: Capacidad Antioxidante de Compuestos Bioactivos. Principios Bioactivos de Plantas Andinas y Amazónicas del Perú. Departamento de Química. UNALM. Perú.
14. CHINNICI, F.; BENDINI, A.; GAIANI, A. and RIPONI, C. 2004. Radical scavenging activities of peels and pulps from cv. Golden Delicious apples as related to their phenolic composition. *J. Agric. Food Chem.* 52, 4684-4689.
15. CORREA, A.; JOKL, L. and CARLSSON, R. 1986. Chemical constituents, in vitro protein digestibility, and presence of antinutritional substances in amaranth grains. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* 36 (2): 319-326.
16. DÁVILA, R. 2003. Determinación de taninos, vitamina C y capacidad antioxidante en frutos de carambola (*Averrhoa carambola* L.). Tesis para optar el Grado de Magíster Scientiae. UNALM. Lima-Perú. 135 p.

17. DE BEER, D.; JOUBERT, E.; WENTZEL, C.A.; GELDERBLOM and MANLEY, M. 2003 Antioxidant activity of South African red and white cultivar wines free radical scavenging. *Journal Agric. Food Chem.* 51: 902-909.
18. DELGADO, P. 2002. Efecto de los tratamientos combinados de maceración y cocción con soluciones alcalinas sobre la aceptabilidad y digestibilidad de dos variedades de frijol híbridos. Tesis para optar el grado de Magíster Scientiae. UNALM. Lima-Perú. 131 p.
19. DOCUMET, L. 2004. Caracterización físico-química y determinación de sus propiedades físicas y fisiológicas del subproducto "borra de hoja de coca (*Erythroxylon novogratense* cv. Truxillense)". Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 149 p.
20. DUARTE, A.; JOKL, L. & CARLSSON, R. 1986. Chemical constituents, *in vitro* protein digestibility, and presence of antinutritional substances in amaranth grains. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición* Vol 36 N° 2.
21. ESPÍN, J. C.; SOLER-RIVAS, C. and WICHERS, H.J. 2000. Characterization of Total Free Radical Scavenger Capacity of Vegetable Oils and Oils Fractions Using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl Radical. *Journal Agric. Food Chem.* 48: 648-656.
22. FEBLES, C.I.; ARIAS, A.; HARDISSON, A.; RODRIGUEZ-ALVAREZ, C. and SIERRA, A. 2002. Phytic Acid Level in Wheat Flours. *Journal of Cereal Science* 36: 19-23.
23. FENNEMA, O. 2000. *Química de los alimentos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza- España, 1258 p.
24. FUKUMOTO, L.R. & MAZZA, G. 2000. Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal Agric. Food Chem.* 48, 3597-3604.
25. FRUTON, J.S. & SIMMONDS, S. 1961. *Bioquímica General*. 2da Edición. Ediciones Omega. Barcelona – España. 1045 p.

26. GAMARRA, S. 2003. Extracción de betaninas de las semillas de ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose), evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de los extractos. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 115 p.
27. GIGA. 1998. Quinoa y amaranto los supercereales del siglo XXI. [www.giga.com](http://www.giga.com).
28. GIMENO C. E. 2003. Alimentos funcionales ¿alimentos del futuro?. *Nutrición*. 22(7): 68 – 71.
29. GUILLEN, F. 1990. Caracterización y análisis de crecimiento de dos ecotipos de coime (*Amaranthus caudatus*) en condiciones de cultivo de campo. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija-Bolivia. 166 p.
30. GRASES, F.; PRIETO, R.M.; COSTA-BAUZÁ, A. El fitato, un producto natural con importantes implicaciones en la salud. Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal. Universitat de les Illes Balears, Palma de Mallorca. Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS).
31. HERNÁNDEZ, M. y PRIETO, E. 1999. Plantas que contienen polifenoles antioxidantes dentro del estilo de vida. *Rev. Cuabana Invest. Biomed.* 18 (1): 12-14.
32. HSU, H., VAVAK, D.; SATTERLEE, L. y MILLER, G. 1977. A multienzyme technique for estimating protein digestibility. *Journal of Food Science*. 42 (5): 1269-1273.
33. HUAYAPA, M. A. 1990. Elaboración de una mezcla proteica a base de arroz, kiwicha, soya y frutas. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 185 p.

34. I.C.T.A. 1990. Instituto de Ciencias y Tecnología Apropiada. Proyecto coime área agroindustrial. Universidad Autónoma Juan Misael Saracho. Tarija-Bolivia. 28 p.
35. IMERI, A.; FLORES, R.; ELÍAS, L. y BRESSANI, R. 1987. Efecto del procesamiento y de la suplementación con aminoácidos sobre la calidad proteínica del amaranto (*Amaranthus caudatus*). Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 37 (1): 160-173.
36. International Food Information Council (IFIC). 2004. Alimentos funcionales. [www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm](http://www.ific.org/sp/nutrition/functional/index.cfm).
37. I.N.E.I. 2004. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Perú Compendio Estadístico 2004. Lima-Perú. 966 p.
38. KÄHKÖNEN, M.; HOPIA, A.; VUORELA, H.; RAUHA, J-P.; PIHLAJA, K.; KUJALA, T. and HEINONEN, M. 1999. Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. J. Agric. Food Chem. 47, 3954-3962.
39. KAUR CH. , & KAPOOR, H. 2001 Antioxidants in fruits and vegetables- The millennium's health. International Journal of Food Science and Technology 36: 703 – 725.
40. KIETZ, R. 1992. Compendio del amaranto. Rescate y revitalización en Bolivia. Ed. Instituto Latinoamericano de Investigaciones Sociales (ILDIS). La Paz-Bolivia. Editorial Garza Azul, 175 p.
41. KLIMCZAK, I.; MALECKA, M. and PACHOLEK, B. 2002 Antioxidant activity of extracts of amaranth seed. *Nahrung / Food* 46 (3): 184-186.
42. LARRAURI, J. ; GOÑI, I. ; MARTÍN CARRÓN, N. ; RÚPEREZ, P. and SAURA-CALIXTO, F. 1996. Measurements of health properties in fruit dietary fibres: Antioxidant capacity, fermentability and glucose retardation index. J. Sci Food Agric. 71:515-519.

43. LEONG, L. and SHUI, G. 2002. An Investigation of Antioxidant Capacity of Fruits in Singapore Markets. *Food Chemistry*. Vol. 76, pp. 69-75.
44. LISTER, C. y PODIVINSKY, E. 1998. Antioxidants in New Zeland grown fruit and vegetables. <http://www>.
45. LOCK, O. 1994. Investigación Fitoquímica. Pontificia Universidad Católica del Perú. Lima- Perú. 300 p.
46. LÓPEZ, L.T. 2002. Flavonoides. *Fitoterapia*. 21(4): 108 – 113.
47. LOTT, J.; OCKENDEN, I.; RABOY, V. and BATTEN, G. 2000. Phytic acid and phosphorus in crop seeds and fruits: a global estimate. *Seed Science Research* 10: 11-33.
48. MACEDO, Y. 1990. Sustitución de harina de trigo por harina de kiwicha (*Amaranthus caudatus*) en la elaboración de galletas. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima Perú. 205 p.
49. MARCH, J.G.; SIMONET, B.M.; GRASES, F. 2001. Determination of phytic by gas chromatography-mass spectroscopy: application to biological samples. *Journal of Chromatography B.*, 757: 247 – 255.
50. MARTÍNEZ, B.; IBAÑEZ, M<sup>a</sup>.V. y RINCÓN, F. 2002. Acido fitico: aspectos nutricionales e implicaciones analíticas. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. V. 52. N°3. Caracas.
51. MAZZA, G. 2000. Alimentos Funcionales. Aspectos bioquímicos y de procesado. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza- España. 457 p.
52. MILLER, H.; RIGELHOF, F.; MARQUART, L.; PRAKASH, A. and KANTER, M. 2000. Whole-grainproducts and antioxidants. *Cereal Foods World* 45:59-63.
53. MORENO, R. 2000. Nutrición y Dietética para tecnólogos de alimentos. Ediciones Díaz de Santos S.A. España, 287 p.
54. MUÑOZ, A. M. 2005. Curso: Alimentos Funcionales. Sociedad Química del Perú.

55. OJEDA, D. 2003. Antocianinas totales, fenólicos totales y actividad antioxidante de las cáscaras de tres variedades de camote morado (*Ipomoea batatas* (L.) Lam). Tesis para optar el título de Ingeniero en Industria Alimentarias.
56. OKOT-KOTBER, M.; YONG, K.-J.; BAGOROGOZA, K.; LIAVOGA, A. 2003. Phytase activity in extracts of flour and bran from wheat cultivars: enhanced extractability with  $\beta$ -glucanase and endo-xylanase. *Journal of Cereal Science* 38: 307-315.
57. PARR, A. and BOLWELL, G.P. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 80: 985-1012.
58. PEKKARINEN, S.; HEINONEN, M. and HOPIA, A. 1999. Flavonoids quercetin, myricetin, kaemferol and (+)-catechin as antioxidants in methyl linoleate. *Journal Sci. Food and Agric.* 79: 499-506.
59. PELLEGRINI, N., RE, R., YANG, M. and RICE-EVANS, C. Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts for Antioxidant Activities Applying 2,2'-azinobis (3-ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid Radical Cation Decolorization Assay.
60. PÉREZ, G. 2003. Los flavonoides antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana Invest Biomed* 22 (1): 48-57.
61. PINEDA, D.; SALUCCI, M.; LÁZARO, R.; MAIANI, G. y FERRO-LUZZI, A. 1999. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes de algunos alimentos. *Rev. Cubana Aliment. Nutr.* 13 (2): 104- 111.
62. PRIOR, R. y CAO, G. 2000. Flavonoids: Diet and Health Relationships. *Nutrition in Clinical Care.* 3 (5):279-288.

63. QUINDE, Z. 1995. Determinación del parámetro de malteo y su efecto en la composición química de la kiwicha *Amaranthus caudatus*. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM . Lima-Perú. 115 p.
64. RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALÀ, A.; YANG, M. and RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic. Biology & Medicine*. 26:1231-1237.
65. REPO-CARRASCO, R. 1998. Introducción a la ciencia y tecnología de cereales y de granos andinos. EDI-Agraria. 137 p.
66. RIOS, C. 2004. Contribución al estudio de algunos compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante presente en diez genotipos de mashua (*Tropaeolum tuberosum* Ruiz & Pavón) y a la evaluación de su estabilidad. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 183 p.
67. RUIZ, R. 2002. Obtención y caracterización de una bebida en polvo en base a maca (*Lepidium meyenii* Walp), kiwicha (*Amaranthus caudatus* L.) y cacao (*Theobroma cacao* L.). Tesis para optar el grado de Magister Scientiae. Lima-Perú. 233 p.
68. SÁNCHEZ-MARROQUÍN, A.; MAYA, S. and DOMINGO, M. 1985. Effect of heat treatment and milling on the seed, flour, rheology and baking quality of some amaranth ecotypes. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 35 (4): 603-619.
69. SANCHEZ-MORENO, C. 2002. Review: Methods used to evaluate the radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food Sci Tech Int* 8 (3): 121-137.
70. SARMIENTO, V. 2003. Estabilidad fisicoquímica y actividad antioxidante de las betalainas en el extracto hidrosoluble del ayrampo (*Opuntia soberensii*) durante el proceso de atomizado. Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae. UNALM. Lima-Perú. 142 p.

71. SATYANARAYANA, R. P. 1990. Efecto de la deficiencia de agua en las diferentes etapas de crecimiento, sobre los parámetros de crecimiento y rendimiento en harina de especies de amaranto de grano. In: El amaranto y su potencial. (Traducción del Inglés) Boletín No. 2 (Junio). Editor General Dr. Ricardo Bressani, 16 p.
72. SAURA-CALIXTO, F. & JIMÉNEZ-ESCRIG, A. 2001. Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. En: fibra dietética en Iberoamérica: Tecnología y salud. Editorial Varela. Sao Paulo.
73. SAUVEUR, B. 1989. *INRA Prod. Anim.* 2: 343-351.
74. SCHMIDT-HEBBEL, H. 1986. Tóxicos químicos en alimentos. Editorial Universitaria. Chile. 82 p.
75. SEGURA, D. 2004. Evaluación de la potencialidad funcional en 15 genotipos de papa nativa (*Solanum sp.*). Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 160 p.
76. STEEL, R. y TORRIE, J. 1990. Bioestadística: Principios y procedimientos. Editorial Mc. Graw Hill. Mexico. 620 p.
77. SUGIHARA, N.; ARAKAWA, T.; OHNISHI, M.; FO, K. 1999. Anti and Pro-Oxidative Effects of Flavonoids on Metalinduced Lipid Hydroperoxide-Dependent Lipid Peroxidation in Cultured Hepatocytes Loaded with  $\alpha$ -Linolenic Acid. Universidad de Fukuyama. Hiroshima, Japón.
78. SWAIN, T. y HILLIS, W. 1959. "The phenolic constituents of *Prunus domestica*". *J. Sci. Food Agric.* January. 63-68.
79. TAPIA, M.; MORÓN, C.; AYALA, G. Y FRÍES, A. 2005. Cultivos Andinos FAO. file:///A:\Cultivos%20Andinos%20FAO%20%20INTRODUCCION.htm
80. TEJERINA, J & ARENAS, R. 2001. Guía para el cultivo y aprovechamiento del Coime o Amaranto (*Amaranthus caudatus* Linneo). Convenio Andrés Bello. Bogotá. 36 p.

81. TEMOCHE, C. 2003. Evaluación de algunas características funcionales de 30 clones de mashua (*Tropaeolum tuberosum*, Ruiz y Pavón). Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. UNALM. Lima-Perú. 147 p.
82. TOMAS, B. F. A. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Alimentación, Nutrición y Salud*. 10(2): 41 – 53.
83. TOJO S.R., LEIS T.R. y TOJO G.R. 2001. Alimentos funcionales o nutraceuticos. *Revista Española de Pediatría*. 57(1): 3 – 12.
84. TOWO, E. SVANBERG, U. and NDOSSI, G. 2003. Effect of grain pre-treatment on different extractable phenolic groups in cereals and legumes commonly consumed in Tanzania. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 83: 980-986.
85. VALENCIA, S.; SAVNBERG, V.; SANDBERG, A. S. and RUALES, J. 1999. Processing of quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd): effects on in vitro iron availability and phytate hydrolysis. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 50: 203-211.
86. VÁSQUEZ, V. y ALZA, M. 1998. Agroexportación. Promotora Lima. 3ra Edición.
87. VTT 2001 Symposium on Whole grain and Human Health. Proceedings of the international Symposium, Finland, June 13-15. Technical Research Center of Finland (VTT), pp 1-145.
88. WEBB, R. y FERNÁNDEZ, G. 2004. Perú en Números 2004. Anuario Estadístico. Editorial Cuánto. Lima-Perú. 1178 p.
89. WWW.WORLDNUTRA.COM. 2002. Tercer Congreso Internacional sobre Alimentos Funcionales. Worldnutra. San Diego – California (USA).
90. YU, L.; SCOTT, H.; PERRET, J.; HARRIS, M.; WILSON, J. and QUIAN, M. 2002. Free radical scavenging properties of wheat extracts. *J. Agric. Food Chem*. 50: 1619-1624.

## **VIII. ANEXOS**

**Anexo 1: Preparación de la muestra (para cereales) para la determinación de la capacidad antioxidante (DPPH, ABTS), fenólicos totales.**

- Moler la muestra en seco hasta partículas finas.
- Tomar 5 g de muestra.
- Añadir 15 ml de metanol
- Agitar en el Sheaker por 20 min a 50°C
- Centrifugar a 1250 rpm por 5 min.
- Recuperar el líquido sobrenadante (L1)
- A los sólidos que quedan en el capucho se le añaden 15 ml de metanol.
- Agitar en el Sheaker por 20 min a temperatura ambiente.
- Centrifugar a 1250 rpm por 5 min.
- Recuperar el líquido sobrenadante (L2).
- A los sólidos que quedan en el capucho se le añaden 15 ml de metanol.
- Agitar en el Sheaker por 20 min a temperatura ambiente.
- Centrifugar a 1250 rpm por 5 min.
- Recuperar el líquido sobrenadante (L3).
- El líquido obtenido ( $L1 + L2 + L3 = M$ ) es la muestra, lista a ser evaluada. El extracto puede ser analizado inmediatamente o almacenado a  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  para su posterior análisis.

## **Anexo 2: Determinación de fenólicos totales**

### **1. Equipos**

- Centrifuga
- Espectrofotómetro

### **2. Reactivos**

- Carbonato de sodio
- Etanol
- Folin-Ciocalteu 0.25N

### **3. Procedimiento**

- Con una micropipeta tomar 0.5 mL del sobrenadante claro del extracto de la muestra y diluir con 8 mL de agua nanopura, mezclar. Paralelamente preparar un blanco empleando 0.5 mL de metanol en reemplazo de la muestra.
- Agregar 0.5 mL de Folin-Ciocalteu 0.25 N, mezclar y dejar reaccionar por 3 minutos.
- Después de los 3 minutos agregar con micropipeta 1 mL de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  1N, mezclar y dejar reaccionar por 10 minutos.
- Centrifugar a 14500 RPM por 15 minutos.
- Ajustar el espectrofotómetro a cero con el blanco a 725 nm.
- Leer la muestra. Si la lectura de la absorbancia es por encima de 0.6, diluir la muestra con metanol y proceder con la reacción de nuevo. Por ejemplo, para una mezcla de 0.2 mL se añade 0.3 mL de metanol hasta formar un total de 0.5 mL.

- Leer las absorbancias cada 30 minutos hasta que no haya cambios significativos en la absorbancia observada.
- Estimar la cantidad de fenólicos totales a partir de la curva estándar desarrollada para ácido gálico:

$$Y = 0.22407447x + 0.001586$$

Donde: y: mg de ácido gálico/ml muestra, x: Absorbancia a 725nm.

Contenido de fenoles totales: Equivalente de ácido gálico (mg equivalente de ácido gálico/100g de muestra) = (a + bx) (ml de extracto total / gr muestra)(0.5 ml muestra reactante/ml del extracto de muestra) (100)

- a) El término del extracto total se refiere a los ml del solvente + ml de muestra (1 g muestra = 1 ml, se asume 1 la densidad)
- b) El término (0.5 ml de muestra reactante/ml de muestra extracto) es el factor de dilución. Si se usa 0.5 ml de muestra de extracto en el análisis entonces la proporción sería 0.5/0.5. Sin embargo, si 0.5 ml de muestra de extracto incrementa la absorbancia sobre 0.6, entonces se puede usar 0.2 ml de la muestra extracto mas 0.3 ml de metanol, dando una proporción de 0.5/0.2. El factor de dilución es 2.5.
- c) El término a + bx viene de la curva estándar. La curva estándar también puede ser expresada como bx.
- d) X es la absorbancia a 725 nm.
- e) El 100 es para expresar las unidades en 100 g de muestra.

$$Eq. \text{AcidoGálico} = (\text{curva estándar}) \left( \frac{\text{ml del extracto total}}{\text{gr de muestra}} \right) \left( \frac{0.5 \text{ ml de muestra reactante}}{\text{ml de extracto de muestra}} \right) (100)$$

La ecuación final es:

mg equivalente de ácido gálico/100 g de muestra=

1000 (0.001586 + 0.22407447 (Absorbancia estable a 725nm))

$$Eq. \text{Ac. clorogénico} = (\text{curva estándar}) \left( \frac{\text{ml del extracto total}}{\text{gr de muestra}} \right) \left( \frac{0.5 \text{ ml de muestra reactante}}{\text{ml de extracto de muestra}} \right) (100)$$

Tomando como referencia la curva estándar reportada por Aguilar (2002) que es la siguiente:

$$Y = 0.5513 X - 0.00904$$

Donde:

Y= mg de ácido clorogénico/ml de muestra

X= Absorbancia a 725 nm.

$$\underline{\text{mg equiv de ácido clorogénico}} = 1000 (0.5513 x - 0.00904)$$

100 g de muestra

La ecuación final expresado en ácido clorogénico es:

mg equivalente de ácido clorogénico/100 g de muestra =

1000 (0.00904 + 0.5513 (Absorbancia estable a 725nm))

### **Anexo 3: Determinación de capacidad antioxidante por DPPH**

#### **1. Equipos**

- Espectrofotómetro
- Centrifuga

#### **2. Reactivos**

- Metanol
- 2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazil (DPPH)

#### **3. Procedimiento**

- Ajustar el espectrofotómetro a cero con metanol.
- Asegurarse que la absorbancia inicial de la solución DPPH a 515 nm es alrededor de  $1.1 \pm 0.02$ .
- Con una micropipeta agregar una alícuota de 150 uL del extracto de la muestra y 2850 uL de la solución DPPH en un vial plástico. Correr un blanco con 150 uL de metanol puro para obtener un factor de corrección (debido a la dilución).
- Permitir que la muestra reaccione con el DPPH, durante 15 minutos, mantener con agitación a temperatura ambiente de 20°C en la oscuridad.
- A los 15 minutos transferir la solución a una cubeta plástica limpia. Golpear suavemente para eliminar las burbujas, realizar la lectura a 515 nm.
- Si la lectura de absorbancia es menor a 0.1, diluir el extracto de la muestra a un factor apropiado y realizar la prueba nuevamente.
- Calcular la disminución de la absorbancia debido al efecto antioxidante como sigue:

$$\Delta A = \text{DPPH}_d - A_{515} \text{ muestra}$$

Donde:

$\Delta A$  = Disminución de la absorbancia debido sólo al antioxidante.

$\text{DPPH}_d$  = Absorbancia del Blanco a los 0 min

$A_{515}$  = absorbancia de la muestra a 515 nm hasta que se estabilice.

- Estimar la actividad antioxidante como equivalente de Trolox usando la siguiente ecuación de curva estándar del DPPH:  $y = 864.41 x$ , Donde  $y$ :  $\mu\text{Molar Trolox}$ ,  $x$ : Disminución de la absorbancia a 515 nm debido solo al antioxidante.
- $\mu\text{g eq. Trolox/g de muestra} = 864.41 \times 0.25 \times 10 \times 1 \times \Delta A$

Donde 0.25 es usado para expresar Trolox en unidades de  $\mu\text{g}$ . Es obtenido a partir del peso molecular del Trolox. Por ejemplo  $0.25 \mu\text{g Trolox} = 1$  micromolar Trolox.

Donde 10 = ((50 ml de extracto total o sea 45 ml de metanol + 5 g de muestra)/5 g de muestra) 1g de muestra = 1 ml.

Donde 1 = (150  $\mu\text{L}$  de muestra reactante/ 150  $\mu\text{L}$  de extracto de muestra). Sin embargo, si 150  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra disminuye la absorbancia por debajo de 0.1, entonces se puede usar 50  $\mu\text{L}$  del extracto simple mas 100 $\mu\text{L}$  del solvente, dando una proporción de 150/50, entonces el factor de dilución es 3.

## **Anexo 4: Determinación de capacidad antioxidante por ABTS**

### **1. Equipos**

- Espectrofotómetro
- Centrífuga

### **2. Reactivos**

- Etanol
- ABTS<sup>+</sup>• (2,2-azinobis-(3-etil-benzotiasol-6-ácido sulfónico)),

### **2. Procedimiento**

- Llevar el espectrofotómetro a cero con etanol.
- Asegurar la absorbancia inicial a 734 nm de la solución diluida de ABTS que es alrededor de  $1.1 \pm 0.02$
- Con una pipeta añadir una alícuota de 150  $\mu\text{L}$  de la muestra y 2850  $\mu\text{L}$  de la solución diluida de ABTS dentro de un vial de plástico limpio, correr un blanco con 150  $\mu\text{L}$  de metanol puro para obtener un factor de corrección (debido a la dilución).
- Permitir que la muestra reaccione con el ABTS, durante 15 minutos, mantener con agitación a temperatura ambiente de 20°C en oscuridad.
- A los 15 minutos transferir la solución a una cubeta plástica limpia. Golpear suavemente para eliminar las burbujas, realizar la lectura a 734 nm.
- Si la lectura de absorbancia es menor a 0.1, diluir el extracto de la muestra a un factor apropiado y realizar la prueba nuevamente.

- Calcular la disminución de la absorbancia debido al efecto antioxidante como sigue:

$$\Delta A = ABTS_d - A_{734} \text{ muestra}$$

Donde:

$\Delta A$  = Disminución de la absorbancia debido sólo al antioxidante.

$ABTS_d$  = Absorbancia del Blanco a los 0 min

$A_{734}$  = absorbancia de la muestra a 734 nm hasta que se estabilice.

- Estimar la actividad antioxidante como equivalente de Trolox usando la siguiente ecuación de curva estándar: del ABTS:  $y = 535.92 x$ , Donde  $y$  :  $\mu\text{Molar Trolox}$   $x$ : Disminución de la absorbancia a 734 nm debido solo al antioxidante.

$$\mu\text{g eq. Trolox/g de muestra} = 535.92 \times 0.25 \times 10 \times 1 \times \Delta A$$

Donde 0.25 es usado para expresar Trolox en unidades de  $\mu\text{g}$ . Es obtenido a partir del peso molecular del Trolox. Por ejemplo  $0.25 \mu\text{g Trolox} = 1$  micromolar Trolox.

Donde 10 = ((50 ml de extracto total o sea 45 ml de metanol + 5 g de muestra)/5 g de muestra), 1g de muestra = 1 ml.

Donde 1 = (150  $\mu\text{L}$  de muestra reactante/ 150  $\mu\text{L}$  de extracto de muestra). Sin embargo, si 150  $\mu\text{L}$  del extracto de la muestra disminuye la absorbancia por debajo de 0.1, entonces se puede usar 50  $\mu\text{L}$  del extracto simple mas 100 $\mu\text{L}$  del solvente, dando una proporción de 150/50, entonces el factor de dilución es 3.

## **Anexo 5: Determinación cuantitativa de ácido fítico en cereales y derivados**

### **1. Equipos**

- Sheaker
- Baño maría
- Bureta
- Agitador magnético con calentamiento.

### **2. Reactivos**

- HCl concentrado
- $\text{Na}_2\text{SO}_4$
- $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 6 \text{H}_2\text{O}$  (sal de Mohr)
- persulfato amónico
- ácido sulfosalicílico al 20%
- glicina
- EDTA- $\text{Na}_2$  0.01 M

### **3. Procedimiento**

- En un matraz con tapa se agregan 5 a 15 g de harina, 40 ml de una solución que contiene 34 ml de HCl concentrado y 50 g de  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  por litro; se deja durante 90 minutos, agitando frecuente y vigorosamente.
- Después de sedimentar, se colocan 20 ml del líquido sobrenadante (filtrado, en caso necesario) en un tubo de 100 ml. Se agregan 20 ml de la misma solución de HCl y  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y 20 ml de la siguiente solución: 7.8432 g de  $\text{FeSO}_4(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 + 6 \text{H}_2\text{O}$  (sal de Mohr) en agua y 14 ml de HCl concentrado,

se oxidan con  $\text{H}_2\text{O}_2$  en caliente y luego se agrega una punta de espátula de persulfato amónico. Después de frío, se completan 1000 ml con agua y se comprueba el título de  $\text{Fe}^{\text{III}}$  0.02 M.

- A continuación se agregan al tubo 20 ml de ácido sulfosalicílico al 20% en agua y se cierra con tapón de goma, atravesado por un tubo estrecho de vidrio de 30 cm de largo. Se calienta al baño de agua hirviendo por 15 minutos, se enfría al chorro de agua y se deja en posición vertical. Comprobada la formación de un precipitado blanco de fitato férrico, se miden 20 ml de sobrenadante límpido, se completa en un vaso unos 200 ml con agua, se ajusta a pH 2.5 mediante 0.75 g de glicina y se calienta a 70 °C. Se titula en caliente y con agitador magnético el exceso de  $\text{Fe}^{\text{III}}$  con  $\text{EDTA-Na}_2$  0.01 M (3.7214 g por 1000) hasta viraje del color rojo-marrón al amarillo claro.

$$\text{Cálculo: \% Acido fitico} = \frac{0.66 (10 - v)}{P}$$

Donde:

v: son los ml de  $\text{EDTA-Na}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$  0.01 M

P: los g de la muestra.

## **Anexo 6: Determinación de digestibilidad *in vitro* de proteína**

### **1. Equipos**

- Balanza analítica
- Baño maría
- pH-metro
- Cronómetro
- Termómetro
- Micropipeta
- Material de vidrio: beaker, tubos de ensayo

### **2. Reactivos**

- Tripsina de páncreas de puerco (Tipo IX) con 14190 unidades BAEE/mg de proteína.
- Quimiotripsina de páncreas bovino (Tipo II) 60 unidades/mg de polvo.
- Peptidasa de intestino de puerco (Grado III) 40 unidades/g de polvo.
- Caseína
- NaOH 0.1N
- HCl 0.1N.

### **3. Procedimiento**

- a. Preparación de la solución multienzimática

- Solución multienzimática: 1.6 mg de tripsina, 3.1 mg de quimiotripsina y 1.3 mg de peptidasa/ml de agua destilada. Mantener en baño de agua helada y ajustar el pH a 8.0 con HCl y/o NaOH 0.1N.
- Antes del ensayo la actividad del sistema multienzimático deberá ser evaluada mediante la digestibilidad de la caseína, cuyos valores de digestibilidad in vitro es de 89.2 aproximadamente.

#### b. Análisis de la muestra

- La muestra a estudiar debe ser un polvo fino, por lo cual se debe pasar por la malla de 80 mesh.
- Preparar 50 ml de suspensión proteica (6.25 mg de proteína/mL) con agua destilada y ajustar el pH a 8.0 con HCl y/o NaOH 0.1N.
- Incubar en un baño maría a 37°C y añadir 5 mL de la solución multienzimática.
- Medir la disminución de pH durante los primeros 10 minutos. Los datos de pH en ese período de tiempo son registrados a intervalos de 1 minuto para posteriormente confeccionar un gráfico de pII versus tiempo de incubación.

#### c. Cálculos

$$Y = 210.464 - 18.103X$$

Donde:

X= pH de la suspensión proteica luego de 10 minutos de digestión con el sistema multienzimático.

Y = porcentaje de hidrólisis de la proteína.

**Anexo 7: Análisis de varianza para la composición proximal de las 10 accesiones de kiwicha cruda**

**a) Análisis de varianza del efecto de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda en el contenido de Humedad**

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	
Accesión	9	0.8943	0.09937	1.2495	2.39	No Significativo
Error	20	1.5905	0.079525			
Total	29	2.4848				

**b) Análisis de Varianza del efecto de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda en el contenido de Proteína**

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	
Accesión	9	9.5666	1.062956	6.9302	2.39	Significativo
Error	20	3.0676	0.15338			
Total	29	12.6342				

**b.1.) Resultados de Comparación de Medias entre las 10 accesiones de kiwicha cruda en cuanto a Proteína en base húmeda con la Prueba de Tuckey**

A1-A2	NS	A2-A6	NS	A4-A5	NS	A6-A8	NS
A1-A3	*	A2-A7	NS	A4-A6	NS	A6-A9	*
A1-A4	NS	A2-A8	NS	A4-A7	NS	A6-A10	NS
A1-A5	NS	A2-A9	NS	A4-A8	NS	A7-A8	NS
A1-A6	NS	A2-A10	NS	A4-A9	*	A7-A9	*
A1-A7	NS	A3-A4	*	A4-A10	NS	A7-A10	NS
A1-A8	NS	A3-A5	*	A5-A6	NS	A8-A9	*
A1-A9	*	A3-A6	*	A5-A7	NS	A8-A10	NS
A1-A10	NS	A3-A7	*	A5-A8	NS	A9-A10	*
A2-A3	NS	A3-A8	*	A5-A9	*		
A2-A4	NS	A3-A9	NS	A5-A10	NS		
A2-A5	NS	A3-A10	NS	A6-A7	NS		

NS= No significativo \* = Significativo

**c) Análisis de Varianza del efecto de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda en el contenido de Grasa**

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	
Accesión	9	3.3849	0.3761	3.5714	2.39	Significativo
Error	20	2.1062	0.10531			
Total	29	5.4911				

**c.1.) Resultados de Comparación de Medias entre las 10 accesiones de kiwicha cruda en cuanto a Grasa en base húmeda con la Prueba de Tuckey**

A1-A2	NS	A2-A6	NS	A4-A5	NS	A6-A8	NS
A1-A3	NS	A2-A7	NS	A4-A6	NS	A6-A9	NS
A1-A4	NS	A2-A8	NS	A4-A7	NS	A6-A10	NS
A1-A5	*	A2-A9	NS	A4-A8	NS	A7-A8	NS
A1-A6	NS	A2-A10	NS	A4-A9	NS	A7-A9	NS
A1-A7	NS	A3-A4	NS	A4-A10	NS	A7-A10	NS
A1-A8	NS	A3-A5	NS	A5-A6	NS	A8-A9	NS
A1-A9	NS	A3-A6	NS	A5-A7	NS	A8-A10	NS
A1-A10	NS	A3-A7	NS	A5-A8	NS	A9-A10	NS
A2-A3	NS	A3-A8	NS	A5-A9	NS		
A2-A4	NS	A3-A9	NS	A5-A10	NS		
A2-A5	*	A3-A10	NS	A6-A7	NS		

NS= No significativo \* = Significativo

**d) Análisis de Varianza del efecto de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda en el contenido de Fibra Cruda**

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	
Accesión	9	0.3414	0.0379	1.9231	2.39	No
Error	20	0.3945	0.019725			Significativo
Total	29	0.7359				

**e) Análisis de Varianza del efecto de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base húmeda en el contenido de Ceniza**

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	
Accesión	9	0.2911	0.03234	2.0787	2.39	No Significativo
Error	20	0.31113	0.01556			
Total	29	0.60223				

**Anexo 8: Medidas de Absorbancia a 725 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología para polifenoles totales para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado.**

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0
2	A1	0.169	0.183	0.187	0.188	0.188	0.189	0.189
3	A1	0.171	0.185	0.189	0.189	0.191	0.191	0.191
4	A3	0.192	0.205	0.209	0.21	0.211	0.211	0.212
5	A3	0.185	0.198	0.201	0.202	0.203	0.203	0.204
6	A4	0.18	0.194	0.198	0.199	0.2	0.2	0.201
7	A4	0.18	0.193	0.196	0.197	0.298	0.198	0.198
8	A7	0.176	0.189	0.193	0.194	0.295	0.196	0.196

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0
2	A1	0.157	0.166	0.17	0.17	0.172	0.171	
3	A2	0.182	0.192	0.197	0.198	0.198	0.197	
4	A3	0.148	0.158	0.161	0.163	0.163	0.164	
5	A4	0.198	0.209	0.215	0.217	0.217	0.218	
6	A5	0.163	0.174	0.179	0.181	0.182	0.182	
7	A5	0.171	0.182	0.187	0.189	0.19	0.19	
8	A6	0.171	0.182	0.186	0.187	0.187	0.188	
9	A6	0.179	0.188	0.193	0.195	0.196	0.197	0.197

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
2	A2	0.19	0.206	0.215	0.218	0.22	0.221	0.222	0.222		
3	A2	0.192	0.208	0.218	0.225	0.223	0.225	0.226	0.226		
4	A5	0.14	0.153	0.159	0.163	0.166	0.167	0.167	0.167		
5	A6	0.156	0.171	0.178	0.183	0.185	0.186	0.187	0.188	0.188	
6	A8	0.151	0.164	0.171	0.176	0.178	0.179	0.18	0.181	0.182	0.182
7	A9	0.168	0.184	0.192	0.195	0.197	0.198	0.198	0.199	0.199	
8	A9	0.167	0.185	0.192	0.196	0.197	0.198	0.199	0.199		
9	A10	0.206	0.221	0.227	0.232	0.235	0.236	0.237	0.237		

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0
2	A7	0.187	0.198	0.203	0.203	0.206	0.206	
3	A7	0.171	0.18	0.183	0.185	0.186	0.186	
4	A8	0.163	0.171	0.176	0.178	0.179	0.18	0.18
5	A8	0.163	0.171	0.175	0.177	0.178	0.179	0.179
6	A9	0.194	0.202	0.207	0.209	0.21	0.21	
7	A10	0.25	0.256	0.261	0.263	0.263	0.264	
8	A10	0.256	0.258	0.262	0.263	0.267	0.264	

**Anexo 9. Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g**

Accesiones	Comp. Fenólicos bh	Promedio bh	DE	Comp. Fenólicos bs	Promedio bs	DE
1	43.9361 44.3842 39.6787	42.67	2.60	49.0085 49.5083 44.2596	47.59	2.90
2	51.3305 52.2268 45.9527	49.84	2.39	57.3225 58.3540 51.3438	55.68	3.80
3	48.8657 47.0731 38.1101	44.68	5.76	54.7147 52.7075 42.6717	50.03	6.45
4	46.4009 45.9527 50.2102	47.52	2.34	51.9898 51.4876 56.2579	53.24	2.62
5	39.0064 42.3675 44.1601	41.84	2.62	43.6655 47.4281 49.4348	46.84	2.93
6	43.7120 43.4879 45.7287	44.31	1.23	49.0705 48.8189 51.3344	49.74	1.38
7	45.5046 47.7453 43.2638	45.50	2.24	50.9285 53.4363 48.4206	50.93	2.51
8	42.3675 41.9194 41.6953	41.99	0.34	47.4972 46.9948 46.7436	47.08	0.38
9	46.1768 46.1768 48.6416	47.00	1.42	51.7040 51.7040 54.4638	52.62	1.59
10	54.6916 60.5176 61.4139	58.87	3.65	61.0193 67.5194 68.5194	65.69	4.07

**Anexo 10. Resultados de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido clorogénico/100 g**

Accesiones	Comp. Fenólicos bh	Promedio bh	DE	Comp. Fenólicos bs	Promedio bs	DE
1	95.1557 96.2583 84.681	92.03	6.39	106.1413 107.3712 94.4573	102.66	7.13
2	113.3486 115.5538 100.1174	109.67	8.35	126.6465 129.1104 111.8630	122.54	9.33
3	107.2843 102.8739 80.8219	96.99	14.18	120.1257 115.1874 90.4959	108.60	15.87
4	101.22 100.1174 110.5921	103.98	5.76	113.4118 112.1764 123.9127	116.50	6.45
5	83.0271 91.2966 95.707	90.01	6.44	92.9442 102.2015 107.1387	100.76	7.21
6	94.6044 94.0531 99.5661	96.07	3.04	106.2016 105.5827 111.7715	107.85	3.41
7	99.0148 104.5278 93.5018	99.01	5.51	110.8168 116.9869 104.6467	110.82	6.17
8	91.2966 90.1940 89.6427	90.38	0.84	102.3504 101.1143 100.4963	101.32	0.94
9	100.6687 100.6687 106.733	102.69	3.50	112.7183 112.7183 119.5084	114.98	3.92
10	121.6181 135.9519 138.1571	131.91	8.98	135.6890 151.6812 154.1416	147.17	10.02

**Anexo 11: Medidas de Absorbancia a 515 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del DPPH para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado.**

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.025	1.025	1.009	1.005	1.005	0.997	0.995	0.996	0.998	1.000	1.006	1.005	1.014
3	A1	0.868	0.879	0.894	0.903	0.914	0.930	0.941	0.954	0.965	0.967	0.966	0.966	0.969
4	A1'	0.867	0.876	0.892	0.903	0.911	0.921	0.924	0.924	0.924	0.924	0.924	0.925	0.928
5	A2	0.863	0.875	0.890	0.904	0.917	0.928	0.939	0.953	0.970	0.982	0.994	1.005	1.017
6	A2'	0.846	0.842	0.839	0.836	0.835	0.834	0.833	0.832	0.831	0.829	0.829	0.829	0.866
7	A3	0.848	0.848	0.848	0.845	0.845	0.846	0.847	0.847	0.847	0.847	0.847	0.849	0.852
8	A3'	0.861	0.865	0.875	0.887	0.887	0.906	0.910	0.910	0.910	0.910	0.911	0.913	0.915

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.953	0.947	0.950	0.964	0.974	0.974	0.980	0.983	0.988	0.994	0.998	1.003	1.007	1.007
3	A5	0.824	0.805	0.796	0.789	0.784	0.780	0.755	0.753	0.752	0.749	0.747	0.746	0.745	0.746
4	A6	0.767	0.745	0.738	0.754	0.770	0.806	0.809	0.833	0.856	0.883	0.907	0.926	0.938	0.941

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'	210'	225'	240'	255'	270'	285'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.898	0.895	0.899	0.905	0.911	0.920	0.926	0.930	0.933	0.933	0.932	0.931	0.929	0.928	0.927	0.926	0.925	0.924	0.923	0.923
3	A7	0.826	0.825	0.828	0.835	0.843	0.851	0.858	0.862	0.861	0.858	0.855	0.852	0.850	0.847	0.845	0.844	0.843	0.843	0.843	0.843
4	A7'	0.811	0.810	0.812	0.815	0.819	0.825	0.830	0.831	0.835	0.835	0.831	0.829	0.826	0.824	0.824	0.823	0.822	0.823	0.822	0.822
5	A8	0.798	0.790	0.787	0.790	0.795	0.802	0.808	0.814	0.821	0.829	0.832	0.834	0.831	0.829	0.831	0.834	0.833	0.834	0.834	0.833
6	A8'	0.814	0.803	0.794	0.788	0.784	0.780	0.776	0.773	0.770	0.766	0.764	0.762	0.760	0.759	0.757	0.756	0.756	0.756	0.755	0.755

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	5'	10'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'	210'	225'	240'	255'	
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.999	1.010	1.018	1.026	1.053	1.081	1.110	1.146	1.178	1.210	1.242	1.273	1.302	1.331	1.358	1.381	1.395	1.408	1.419	1.428	
3	A9	0.777	0.768	0.763	0.761	0.759	0.762	0.768	0.779	0.788	0.797	0.809	0.813	0.816	0.820	0.821	0.821	0.823	0.827	0.830	0.838	
4	A9'	0.808	0.800	0.896	0.793	0.785	0.785	0.786	0.786	0.784	0.784	0.783	0.783	0.783	0.784	0.784	0.784	0.784	0.783	0.784	0.783	0.784
5	A10	0.806	0.801	0.799	0.799	0.801	0.803	0.806	0.811	0.815	0.819	0.824	0.828	0.829	0.828	0.825	0.823	0.820	0.819	0.817	0.817	
6	A10'	0.717	0.705	0.696	0.691	0.674	0.665	0.658	0.652	0.645	0.640	0.631	0.625	0.618	0.612	0.607	0.601	0.597	0.592	0.588	0.584	

Celda	Muestra	270'	285'	300'	315'	330'	345'	360'	375'	390'	405'	420'	435'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.435	1.442	1.451	1.459	1.468	1.477	1.494	1.512	1.527	1.530	1.452	1.465
3	A9	0.838	0.843	0.847	0.853	0.855	0.858	0.860	0.862	0.866	0.869	0.871	0.873
4	A9'	0.784	0.784	0.786	0.786	0.787	0.787	0.789	0.790	0.792	0.793	0.794	0.796
5	A10	0.817	0.816	0.817	0.817	0.818	0.821	0.829	0.840	0.855	0.872	0.889	0.891
6	A10'	0.581	0.577	0.575	0.572	0.570	0.568	0.566	0.564	0.562	0.561	0.559	0.559

Celda	Muestra	0'	5'	10'	15'	30'
1	Metanol	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.101	1.112	1.116	1.116	1.109
3	A2	0.846	0.837	0.835	0.839	0.866
4	A5	0.883	0.885	0.889	0.893	0.906
5	A6	0.878	0.906	0.930	0.946	0.979
6	A8	0.897	0.910	0.915	0.919	0.932
7	A9	0.881	0.885	0.889	0.891	0.899

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	5'	10'	15'	30'
1	Metanol	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.002	1.013	1.023	1.032	1.060
3	A10	0.844	<b>0.841</b>	0.841	0.842	0.848
4	A10'	0.857	0.852	<b>0.851</b>	0.852	0.857

Celda	Muestra	0'	5'	10'	15'	30'	45'	60'	15'	30'	45'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	<b>0.995</b>									
3	A1	0.849	0.842	0.838	0.834	0.827	0.820	0.814	<b>0.812</b>	0.820	0.829
4	A3	<b>0.840</b>	0.842	0.844	0.847	0.856	0.868	0.879	0.893	0.911	0.926
5	A4	0.829	<b>0.828</b>	0.830	0.831	0.835	0.842	0.850	0.857	0.868	0.877

Celda	Muestra	0'	5'	10'	15'	30'	45'	60'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	<b>1.008</b>						
3	A4	0.884	0.879	0.877	0.874	<b>0.868</b>	0.871	0.875
4	A4	0.884	0.879	0.877	0.875	0.869	<b>0.866</b>	0.875
5	A5	0.883	<b>0.881</b>	0.882	0.882	0.885	0.890	0.894
6	A6	<b>0.884</b>	0.884	0.887	0.890	0.902	0.915	0.928
7	A7	0.902	<b>0.897</b>	0.900	0.903	0.913	0.925	0.939

**Anexo 12: Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 10 accesiones de kiwicha cruda con DPPH a 515 nm, expresado en  $\mu\text{g}$  eq Trolox/ g**

Accesiones	CA bh	Promedio bh	DE	CA bs	Promedio bs	DE
1	339.28 341.44 395.47	358.73	31.84	378.45 380.86 441.13	400.15	35.51
2	350.09 423.56 574.83	449.49	114.59	391.16 473.25 642.27	502.23	128.04
3	388.98 354.41 334.96	359.45	27.36	435.54 396.83 375.05	402.47	30.64
4	302.54 306.87 360.89	323.43	32.51	338.98 343.83 404.36	362.39	36.43
5	449.49 274.45 471.1	398.35	107.84	503.18 307.23 527.37	445.93	120.72
6	267.97 464.62 481.91	404.83	118.84	300.82 521.58 540.99	454.46	133.41
7	157.75 190.17 239.87	195.93	41.36	176.55 212.84 268.46	219.28	46.29
8	239.87 309.03 440.85	329.92	102.10	268.91 346.45 494.23	369.86	114.47
9	518.65 466.78 475.43	486.95	27.79	580.73 522.65 532.34	545.24	31.11
10	432.2 347.93 326.31	368.81	55.95	482.2 388.18 364.06	411.48	62.42

**Anexo 13: Medidas de Absorbancia a 734 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del ABTS para las 10 accesiones de kiwicha cruda por triplicado.**

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.087	1.014	0.986	0.964	0.954	0.942	0.94	0.935	0.933	0.932	0.93	0.929	0.928
3	A1	0.55	0.459	0.412	0.382	0.361	0.336	0.319	0.305	0.294	0.281	0.271	0.263	0.258
4	A1	0.523	0.429	0.375	0.343	0.321	0.295	0.28	0.269	0.255	0.247	0.238	0.232	0.228
5	A2	0.43	0.327	0.282	0.252	0.233	0.218	0.205	0.195	0.187	0.18	0.173	0.168	0.164
6	A2	0.521	0.432	0.384	0.349	0.328	0.312	0.301	0.292	0.284	0.278	0.272	0.268	0.265
7	A3	0.479	0.408	0.38	0.357	0.342	0.32	0.303	0.293	0.281	0.273	0.264	0.258	0.253
8	A3	0.575	0.488	0.443	0.412	0.387	0.36	0.338	0.326	0.314	0.306	0.298	0.293	0.289
9	A4	0.484	0.392	0.341	0.309	0.285	0.265	0.249	0.236	0.225	0.217	0.208	0.203	0.197

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.085	0.935	0.905	0.884	0.865	0.851	0.844	0.839	0.836	0.834	0.832	0.831	0.830	0.830
3	A8	0.605	0.524	0.478	0.440	0.410	0.394	0.382	0.372	0.365	0.361	0.357	0.354	0.353	0.352
4	A8	0.596	0.519	0.470	0.435	0.411	0.396	0.384	0.376	0.372	0.369	0.366	0.364	0.363	0.363
5	A9	0.614	0.526	0.475	0.445	0.419	0.408	0.398	0.392	0.384	0.378	0.373	0.369	0.364	0.361
6	A9	0.621	0.536	0.493	0.460	0.441	0.424	0.412	0.403	0.394	0.387	0.380	0.374	0.368	0.364
7	A10	0.636	0.548	0.502	0.469	0.443	0.426	0.412	0.400	0.389	0.381	0.372	0.366	0.360	0.355
8	A10	0.596	0.514	0.466	0.423	0.396	0.377	0.362	0.351	0.342	0.336	0.327	0.322	0.317	0.312

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.945	0.915	0.906	0.899	0.896	0.894	0.896	0.899	0.902	0.907	0.911	0.916	0.92	0.925
3	A1	0.369	0.287	0.245	0.214	0.19	0.168	0.151	0.135	0.12	0.108	0.096	0.086	0.076	0.068
4	A3	0.402	0.331	0.296	0.269	0.248	0.228	0.213	0.2	0.188	0.178	0.169	0.161	0.154	0.148
5	A4	0.405	0.332	0.282	0.252	0.226	0.205	0.187	0.171	0.156	0.143	0.131	0.121	0.111	0.102
6	A4	0.416	0.333	0.291	0.26	0.233	0.211	0.191	0.175	0.159	0.144	0.132	0.123	0.113	0.104
7	A7	0.417	0.333	0.291	0.26	0.235	0.214	0.196	0.18	0.166	0.152	0.139	0.129	0.119	0.11

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.079	1.059	1.053	1.048	1.043	1.039	1.035	1.031	1.029	1.026	1.025	1.023	1.022	1.02
3	A2	0.466	0.376	0.337	0.31	0.387	0.268	0.249	0.232	0.219	0.208	0.2	0.192	0.185	0.178
4	A5	0.528	0.444	0.411	0.387	0.366	0.349	0.332	0.315	0.3	0.289	0.278	0.268	0.259	0.25
5	A6	0.433	0.334	0.3	0.277	0.257	0.239	0.224	0.209	0.199	0.192	0.185	0.18	0.175	0.17
6	A8	0.493	0.41	0.374	0.348	0.325	0.305	0.288	0.271	0.258	0.246	0.235	0.225	0.216	0.206
7	A9	0.443	0.355	0.317	0.29	0.267	0.248	0.231	0.215	0.202	0.19	0.18	0.17	0.161	0.153
8	A10	0.456	0.363	0.323	0.296	0.273	0.253	0.235	0.217	0.203	0.191	0.181	0.171	0.163	0.154

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.046	1.031	1.032	1.032	1.033	1.033	1.035	1.036	1.037	1.039	1.041	1.042	1.044
3	A5	0.487	0.414	0.373	0.343	0.318	0.297	0.279	0.263	0.249	0.237	0.225	0.214	0.205
4	A5	0.489	0.414	0.373	0.343	0.319	0.297	0.278	0.262	0.248	0.234	0.222	0.211	0.2
5	A6	0.513	0.442	0.403	0.376	0.354	0.335	0.319	0.305	0.294	0.283	0.273	0.264	0.256
6	A6	0.508	0.431	0.39	0.36	0.336	0.316	0.299	0.284	0.271	0.26	0.249	0.24	0.231
7	A7	0.508	0.428	0.386	0.357	0.334	0.313	0.297	0.283	0.271	0.26	0.25	0.241	0.232
8	A7	0.47	0.392	0.35	0.319	0.295	0.274	0.255	0.24	0.227	0.215	0.205	0.195	0.187

**Anexo 14: Medidas de Absorbancia a 725 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología para polifenoles totales para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.**

a= Kiwicha tostada a 100°C x 15 seg

b= Kiwicha tostada a 150 °C x 15 seg

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'	330'	360'	390'	420'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A1a	0.154	0.171	0.182	0.19	0.195	0.2	0.204	0.207	0.209	0.211	0.212	0.213	0.213	0.213	0.213
3	A1a	0.141	0.156	0.166	0.173	0.179	0.184	0.187	0.191	0.193	0.195	0.196	0.197	0.198	0.198	0.198
4	A1a	0.152	0.172	0.183	0.192	0.199	0.204	0.207	0.21	0.213	0.215	0.217	0.217	0.218	0.219	0.219
5	A1b	0.148	0.163	0.173	0.181	0.186	0.191	0.195	0.198	0.2	0.202	0.202	0.203	0.204	0.204	0.204
6	A1b	0.161	0.175	0.185	0.192	0.198	0.203	0.206	0.209	0.211	0.212	0.213	0.214	0.215	0.216	0.216
7	A1b	0.157	0.175	0.186	0.194	0.2	0.206	0.209	0.213	0.215	0.217	0.217	0.218	0.218	0.219	0.217

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'	330'	360'	390'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A2a	0.163	0.182	0.194	0.202	0.208	0.214	0.217	0.22	0.221	0.222	0.222	0.223	0.224	0.223
3	A2a	0.161	0.177	0.189	0.196	0.202	0.207	0.21	0.213	0.214	0.214	0.215	0.216	0.216	0.216
4	A2a	0.173	0.19	0.202	0.209	0.215	0.22	0.223	0.225	0.226	0.226	0.227	0.228	0.228	0.228
5	A2b	0.199	0.221	0.236	0.245	0.253	0.258	0.261	0.263	0.264	0.265	0.266	0.267	0.267	0.267
6	A2b	0.207	0.229	0.244	0.254	0.261	0.267	0.27	0.272	0.273	0.274	0.275	0.276	0.276	0.277
7	A2b	0.206	0.228	0.243	0.253	0.261	0.267	0.271	0.273	0.274	0.275	0.276	0.277	0.278	0.278

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'	330'	360'	390'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A5a	0.177	0.193	0.203	0.21	0.216	0.221	0.225	0.227	0.23	0.231	0.232	0.232	0.233	0.233
3	A5a	0.177	0.194	0.203	0.211	0.217	0.222	0.226	0.229	0.231	0.233	0.233	0.234	0.234	0.234
4	A5a	0.188	0.208	0.218	0.226	0.232	0.237	0.242	0.245	0.247	0.249	0.25	0.251	0.251	0.251
5	A5b	0.216	0.239	0.252	0.262	0.269	0.275	0.281	0.283	0.286	0.288	0.289	0.29	0.29	0.29
6	A5b	0.212	0.234	0.247	0.257	0.265	0.271	0.276	0.279	0.282	0.284	0.285	0.287	0.287	0.287
7	A5b	0.206	0.228	0.241	0.251	0.259	0.266	0.271	0.274	0.277	0.279	0.28	0.281	0.281	0.281

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0
2	A6a	0.2	0.203	0.206	0.208	0.208	0.208	0.208
3	A6a	0.196	0.2	0.203	0.204	0.205	0.205	0.205
4	A6a	0.209	0.213	0.216	0.218	0.218	0.219	0.219
5	A6b	0.234	0.238	0.241	0.243	0.244	0.244	0.244
6	A6b	0.231	0.235	0.239	0.241	0.242	0.242	0.242
7	A6b	0.236	0.241	0.244	0.245	0.246	0.247	0.247

Celda	Muestra	0'	30'	60'	90'	120'	150'	180'	210'	240'	270'	300'
1	Blanco	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	A9a	0.173	0.191	0.203	0.213	0.221	0.227	0.231	0.234	0.236	0.236	0.237
3	A9a	0.164	0.179	0.189	0.198	0.206	0.211	0.214	0.217	0.219	0.219	0.22
4	A9a	0.177	0.193	0.205	0.214	0.222	0.228	0.232	0.235	0.237	0.237	0.238
5	A9b	0.2	0.22	0.233	0.244	0.252	0.258	0.262	0.264	0.265	0.266	0.266
6	A9b	0.194	0.214	0.227	0.239	0.248	0.254	0.258	0.262	0.263	0.263	0.264
7	A9b	0.192	0.214	0.228	0.239	0.248	0.254	0.258	0.26	0.262	0.262	0.263

**Anexo 15: Medidas de Absorbancia a 515 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del DPPH para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.**

a= Kiwicha tostada a 100°C x 15 seg

b= Kiwicha tostada a 150 °C x 15 seg

Celda	Muestra	0'	1'	2'	3'	4'	5'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.075	1.075	1.076	1.078	1.079	1.08	1.092	1.107	1.122	1.137	1.153	1.17	1.187
3	A1a	0.922	0.922	0.922	0.922	0.921	0.921	0.921	0.923	0.928	0.935	0.941	0.949	0.956
4	A1a	0.931	0.928	0.929	0.928	0.928	0.929	0.93	0.933	0.938	0.945	0.95	0.957	0.964
5	A1a	0.932	0.93	0.93	0.931	0.931	0.931	0.932	0.934	0.937	0.942	0.946	0.951	0.956
6	A1b	0.91	0.908	0.907	0.906	0.905	0.904	0.898	0.89	0.883	0.879	0.877	0.875	0.881
7	A1b	0.892	0.89	0.889	0.888	0.887	0.887	0.88	0.872	0.867	0.871	0.874	0.866	0.975
8	A1b	0.52	0.85	0.849	0.849	0.849	0.849	0.85	0.854	0.859	0.865	0.871	0.879	0.886

Celda	Muestra	0'	1'	2'	3'	5'	10'	15'	30'	45'	60'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.047	1.052	1.053	1.056	1.056	1.059	1.064	1.075	1.086	1.097
3	A2a	0.859	0.86	0.859	0.859	0.86	0.861	0.86	0.861	0.864	0.866
4	A2a	0.891	0.891	0.891	0.891	0.891	0.891	0.89	0.89	0.893	0.896
5	A2a	0.869	0.868	0.868	0.868	0.866	0.864	0.861	0.855	0.85	0.854
6	A2b	0.845	0.844	0.843	0.843	0.841	0.838	0.834	0.827	0.821	0.828
7	A2b	0.815	0.813	0.814	0.814	0.813	0.812	0.809	0.807	0.805	0.806
8	A2b	0.858	0.857	0.856	0.856	0.857	0.858	0.856	0.857	0.86	0.864

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	1'	2'	5'	15'	30'	45'	60'	75'	90'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.055	1.057	1.058	1.062	1.072	1.086	1.102	1.124	1.139	1.154
3	A5a	0.884	0.882	0.881	0.878	0.869	0.861	0.861	0.863	0.874	0.874
4	A5a	0.889	0.888	0.887	0.884	0.876	0.867	0.861	0.855	0.851	0.856
5	A5a	0.897	0.896	0.894	0.892	0.89	0.889	0.89	0.893	0.897	0.9
6	A5b	0.868	0.865	0.864	0.862	0.86	0.86	0.862	0.867	0.872	0.877
7	A5b	0.857	0.853	0.852	0.85	0.845	0.843	0.845	0.848	0.852	0.859
8	A5b	0.874	0.867	0.865	0.862	0.86	0.862	0.865	0.873	0.879	0.887

Celda	Muestra	0'	1'	5'	10'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.056	1.057	1.06	1.065	1.069	1.083	1.097	1.111	1.127	1.147	1.162	1.178	1.196	1.213	1.215
3	T6a	0.896	0.896	0.897	0.897	0.898	0.902	0.907	0.912	0.919	0.926	0.933	0.94	0.948	0.956	0.962
4	A6a	0.886	0.885	0.881	0.877	0.874	0.867	0.86	0.864	0.863	0.875	0.898	0.919	0.903	0.93	0.945
5	A6a	0.883	0.881	0.877	0.874	0.871	0.864	0.859	0.855	0.852	0.85	0.848	0.846	0.844	0.843	0.845
6	A6b	0.894	0.892	0.891	0.89	0.89	0.892	0.896	0.901	0.908	0.916	0.923	0.931	0.94	0.947	0.956
7	A6b	0.85	0.848	0.847	0.846	0.846	0.846	0.849	0.853	0.858	0.865	0.871	0.878	0.885	0.893	0.898
8	A6b	0.883	0.879	0.878	0.875	0.875	0.876	0.879	0.882	0.887	0.891	0.895	0.903	0.908	0.916	0.923

Celda	Muestra	0'	3'	5'	10'	15'	30'	45'	60'	75'
1	Metanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.046	1.04	1.041	1.046	1.05	1.062	1.075	1.09	1.102
3	A9a	0.898	0.89	0.89	0.889	0.889	0.89	0.892	0.895	0.898
4	A9a	0.871	0.862	0.86	0.856	0.853	0.843	0.836	0.835	0.839
5	A9a	0.875	0.863	0.861	0.856	0.853	0.845	0.838	0.833	0.841
6	A9b	0.865	0.855	0.854	0.854	0.854	0.853	0.855	0.858	0.962
7	A9b	0.856	0.844	0.845	0.841	0.841	0.84	0.842	0.846	0.849
8	A9b	0.855	0.844	0.843	0.842	0.842	0.842	0.845	0.849	0.855

**Anexo 16: Medidas de Absorbancia a 734 nm con respecto al Tiempo (minutos), tomadas mediante la metodología del ABTS para las 5 accesiones de kiwicha (de mayor capacidad antioxidante) tostada por triplicado.**

a= Kiwicha tostada a 100°C x 15 seg

b= Kiwicha tostada a 150 °C x 15 seg

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.898	0.879	0.878	0.875	0.87	0.867	0.865	0.86	0.856
3	A1a	0.58	0.522	0.481	0.446	0.416	0.383	0.358	0.324	0.294
4	A1a	0.516	0.462	0.426	0.394	0.37	0.342	0.307	0.26	0.236
5	A1a	0.561	0.516	0.478	0.439	0.406	0.379	0.322	0.295	0.274
6	A1b	0.593	0.545	0.512	0.473	0.443	0.415	0.373	0.339	0.343
7	A1b	0.597	0.55	0.503	0.47	0.436	0.4	0.354	0.325	0.3
8	A1b	0.572	0.504	0.469	0.43	0.385	0.325	0.289	0.26	0.24

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	0.939	0.929	0.926	0.922	0.92	0.916	0.912	0.911	0.909	0.905	0.902	0.898	0.896
3	A2a	0.529	0.464	0.428	0.389	0.36	0.318	0.261	0.233	0.22	0.196	0.182	0.172	0.16
4	A2a	0.526	0.466	0.429	0.396	0.368	0.344	0.319	0.301	0.267	0.23	0.206	0.197	0.18
5	A2a	0.532	0.47	0.434	0.399	0.371	0.339	0.312	0.287	0.259	0.224	0.202	0.192	0.177
6	A2b	0.464	0.424	0.391	0.362	0.343	0.318	0.28	0.254	0.22	0.195	0.165	0.162	0.138
7	A2b	0.363	0.341	0.306	0.282	0.254	0.235	0.206	0.175	0.148	0.132	0.12	0.112	0.106
8	A2b	0.369	0.343	0.309	0.284	0.26	0.237	0.205	0.176	0.146	0.124	0.139	0.134	0.124

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.192	1.188	1.125	1.093	1.093	1.085	1.078	1.08	1.078	1.08	1.081
3	A5a	0.57	0.5	0.449	0.385	0.298	0.242	0.212	0.193	0.174	0.165	0.153
4	A5a	0.64	0.584	0.576	0.471	0.397	0.361	0.323	0.315	0.302	0.285	0.274
5	A5a	0.611	0.559	0.482	0.396	0.338	0.304	0.275	0.261	0.246	0.233	0.224
6	A5b	0.586	0.541	0.484	0.432	0.322	0.32	0.29	0.278	0.253	0.245	0.234
7	A5b	0.546	0.532	0.505	0.507	0.503	0.388	0.338	0.335	0.285	0.262	0.258
8	A5b	0.595	0.545	0.51	0.457	0.352	0.319	0.29	0.274	0.264	0.24	0.233

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'	180'	195'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.234	1.27	1.282	1.28	1.281	1.283	1.285	1.287	1.289	1.29	1.291	1.292	1.294	1.294
3	A6a	0.572	0.519	0.499	0.477	0.452	0.439	0.424	0.408	0.397	0.357	0.34	0.319	0.307	0.307
4	A6a	0.55	0.504	0.473	0.458	0.438	0.425	0.401	0.396	0.367	0.351	0.336	0.315	0.294	0.294
5	A6a	0.581	0.535	0.508	0.484	0.469	0.458	0.43	0.425	0.418	0.372	0.362	0.343	0.337	0.334
6	A6b	0.54	0.492	0.465	0.435	0.415	0.394	0.358	0.339	0.319	0.302	0.284	0.277	0.272	0.268
7	A6b	0.533	0.479	0.454	0.431	0.409	0.389	0.364	0.345	0.322	0.307	0.29	0.282	0.264	0.26
8	A6b	0.548	0.492	0.468	0.448	0.424	0.406	0.386	0.368	0.343	0.315	0.309	0.291	0.281	0.277

Continúa...

Sigue...

Celda	Muestra	0'	15'	30'	45'	60'	75'	90'	105'	120'	135'	150'	165'
1	Etanol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Blanco	1.119	1.106	1.109	1.112	1.111	1.112	1.112	1.112	1.112	1.112	1.109	1.107
3	A9a	0.567	0.518	0.492	0.468	0.448	0.43	0.414	0.391	0.364	0.352	0.339	0.337
4	A9a	0.551	0.504	0.475	0.45	0.429	0.411	0.393	0.376	0.348	0.331	0.305	0.298
5	A9a	0.541	0.493	0.461	0.435	0.418	0.402	0.381	0.365	0.341	0.323	0.306	0.306
6	A9b	0.489	0.439	0.407	0.379	0.362	0.337	0.309	0.297	0.273	0.263	0.252	0.241
7	A9b	0.428	0.381	0.352	0.329	0.206	0.291	0.273	0.232	0.209	0.205	0.188	0.179
8	A9b	0.475	0.395	0.363	0.336	0.313	0.292	0.275	0.251	0.217	0.203	0.19	0.184

**Anexo 17: Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 10 accesiones de kiwicha cruda con ABTS a 734 nm, expresado en  $\mu\text{g}$  eq Trolox/ g**

Accesiones	CA bh	Promedio bh	DE	CA bs	Promedio bs	DE
1	1175.00 1110.70 1150.89	1145.53	32.48	1310.65 1238.93 1283.76	1277.78	36.23
2	1207.16 1236.63 1101.32	1181.70	71.16	1348.78 1381.71 1230.52	1320.34	79.51
3	1067.82 1117.39 1069.16	1084.79	28.24	1195.63 1251.14 1197.13	1214.63	31.62
4	1129.45 1126.77 1192.42	1149.55	37.15	1265.49 1262.49 1336.04	1288.01	41.62
5	1110.69 1126.77 1133.47	1123.64	11.71	1243.36 1261.36 1268.86	1257.86	13.10
6	1217.88 1058.44 1091.94	1122.75	84.07	1367.18 1188.19 1225.80	1260.39	94.37
7	1118.73 1090.60 1150.89	1120.07	30.17	1252.08 1220.59 1288.07	1253.58	37.76
8	1169.64 982.10 967.34	1039.69	112.78	1311.26 1101.01 1084.46	1165.58	126.44
9	1240.65 970.00 966.00	1058.88	157.43	1389.15 1086.10 1081.63	1185.63	174.27
10	1239.31 978.05 1035.66	1084.34	137.26	1382.69 1091.21 1155.48	1209.79	153.14

**Anexo 18. Análisis de Varianza para la Capacidad Antioxidante de las 10 accesiones de kiwicha cruda**

**DPPH:** Trolox Eq= 864.41 \*0.25\*10\*(Abs.Blanco-Abs estable) ugEq Trolox/g tejido

**ABTS:** Trolox Eq= 535.92\* 0.25\* 10\*(Abs.Blanco-Abs estable) ugEq Trolox/g tejido

A1= accesión 1...

R1= capacidad antioxidante según DPPH

R2= capacidad antioxidante según ABTS

Arreglo Factorial en DCA 10x2 Factor A= Accesiones Factor B= método (ABTS y DPPH)

Rep	A1		A2		A3		A4		A5		A6		A7		A8		A9		A10		Total
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2											
1	378.45	1310.65	391.16	1348.78	435.54	1195.63	338.98	1265.49	503.18	1243.36	300.82	1367.18	176.55	1252.08	268.91	1311.26	580.73	1389.15	482.2	1382.69	16922.79
2	380.86	1238.93	473.25	1381.71	396.83	1251.14	343.83	1262.49	307.23	1261.36	521.58	1188.19	212.84	1220.59	346.45	1101.01	522.65	1086.1	388.18	1091.21	15976.43
3	441.13	1283.76	642.27	1230.52	375.05	1197.13	404.36	1336.04	527.37	1268.86	540.99	1225.8	268.46	1288.07	494.23	1084.46	532.34	1081.63	364.06	1155.48	16742.01
Total	1200.44	3833.34	1506.68	3961.01	1207.42	3643.9	1087.17	3864.02	1337.78	3773.58	1363.39	3781.17	657.85	3760.74	1109.59	3496.73	1635.72	3556.88	1234.44	3629.38	49641.23

ANVA para el arreglo factorial 10x2.

Fuente de Variabilidad	GL	SC	CM	Fcal
A	9	135575.2449	15063.91721	1.8427
B	1	10383584.64	10383584.64	1270.1642
AB	9	138909.9851	15434.44279	1.888
Error	40	326999.75	8174.99375	
Total	59	10985069.63		

Ftab

F(9, 40, 0.95) = 2.12 no significativo

F(1, 40, 0.95) = 4.08 significativo

F(9, 40, 0.95) = 2.12 no significativo

H<sub>p</sub>: (αβ)<sub>ij</sub>=0. No hay interacción entre las accesiones y el método de capacidad antioxidante empleado

H<sub>a</sub>: Al menos un (αβ)<sub>ij</sub> ≠ 0. Al menos existe una interacción entre una de las accesiones y el método de capacidad antioxidante empleado.

α = 0.05

**Criterios de decisión**Si  $F_{cal} < 2.12$  se acepta la  $H_p$  $F_{cal} = 1.89$  Se acepta la  $H_p$ Si  $F_{cal} > 2.12$  se rechaza la  $H_p$ **Resultados y conclusiones:**

No existe evidencia estadística al 5% de nivel de significancia que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que no existe un efecto significativo para la interacción entre la accesión y el método de capacidad antioxidante utilizado.

Se realiza efectos de los factores por separado o efectos principales:

**Factor A:**

$H_p$ : La capacidad antioxidante es semejante para cada accesión

$H_a$ : Al menos una accesión tiene diferente capacidad antioxidante en promedio a las demás

$\alpha = 0.05$

**Criterios de decisión**Si  $F_{cal} < 2.12$  se acepta la  $H_p$  $F_{cal} = 1.84$  Se acepta la  $H_p$ Si  $F_{cal} > 2.12$  se rechaza la  $H_p$ 

**Conclusión:** No existe evidencia estadística al 5% de nivel de significancia que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que la capacidad antioxidante es semejante para cada accesión

**Ordenando de mayor a menor capacidad antioxidante ( $\mu\text{gEq Trolox/g tejido}$ ):**

Orden	Accesión	Cap. Antioxiid Promedio
1°	A2	911.28
2°	A9	865.43
3°	A6	857.43
4°	A5	851.89
5°	A1	838.96

Orden	Accesión	Cap. Antioxiid Promedio
6°	A4	825.2
7°	A10	810.64
8°	A3	808.55
9°	A8	767.72
10°	A7	736.43

Se escogió las 5 primeras accesiones con mayor capacidad antioxidante: A2, A9, A6, A5, A1

**Factor B:**

Hp: La capacidad antioxidante es semejante con cualquiera de los dos métodos (DPPH y ABTS).

Ha: La capacidad antioxidante es diferente con cualquiera de los dos métodos (DPPH y ABTS).

$\alpha = 0.05$

**Criterios de decisión**

Si  $F_{cal} < 4.08$  se acepta la Hp

$F_{cal} = 1270.16$  Se rechaza la Hp

Si  $F_{cal} > 4.08$  se rechaza la Hp

**Conclusiones:**

Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significancia que nos permite rechazar la Hp por lo que se puede afirmar que existe diferencias significativas en la capacidad antioxidante entre los dos métodos empleados.

**Prueba de T para los métodos de capacidad antioxidante:**

Hp:  $\mu_2 = \mu_1$ .

Si  $t_{cal} > t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la Hp

$$Sd = \sqrt{(8174.99375(2/30))} = 23.34522614$$

Hp:  $\mu_2 > \mu_1$ .

$\alpha = 0.05$

$$\hat{Y}_1 = 12340.48/30 = 411.3493$$

$$\hat{Y}_2 = 37300.75/30 = 1243.3583$$

$$T_{cal} = (1243.3583 - 411.3493) / 23.34522614$$

$$T_{cal} = 35.6394$$

$$T_{tab} = T(0.95, 40) = 1.684$$

Como  $T_{cal} > T_{tab}$  Se rechaza la Hp

**Conclusiones:** La capacidad antioxidante promedio es mayor con el método de ABTS que con el método de DPPH.

**Anexo 19. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método de ABTS y el método del DPPH**

Regresión Lineal Simple

X= Capacidad antioxidante medida por el método de DPPH (ug Equiv. Trolox/g, bs)

Y= Capacidad antioxidante medida por el método de ABTS (ug Equiv. Trolox/g, bs)

Accesiones	X	Y
1	400.15	1277.78
2	502.23	1320.34
3	402.47	1214.63
4	362.39	1288.01
5	445.93	1257.86
6	454.46	1260.39
7	219.28	1253.58
8	369.86	1165.58
9	545.24	1185.63
10	411.48	1209.79
<b>Total</b>	<b>4113.49</b>	<b>12433.59</b>

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 1246.5972 - 0.00787 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	4.366147052	4.366147	0.00166	F(1,8,0.95)	5.32	Ns
Error	8	21039.47504	2629.93438				
Total	9	21043.84119					

$H_0: \beta_1 = 0$

$H_a: \beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 0.00166 < F_{tab} = 5.32$  Se acepta la  $H_0$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$ , por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (capacidad antioxidante medida por el método del ABTS sobre X (capacidad antioxidante medida por el método del DPPH) de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca, es no significativo.

**Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC(\text{Regresión}) / SC(\text{Total}) = 4.366147052 / 221043.84119 = 0.000207$$

El 0.021% de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida por el método del ABTS es explicada por la CA medida por el método del DPPH de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca.

**Coefficiente de correlación**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.014$$

Existe un 1.4% de asociación entre las dos variables: CA medida por el método del ABTS y CA medida por el método del DPPH de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca.

**Anexo 20. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método de DPPH y el método del ABTS**

Regresión Lineal Simple

X= Capacidad antioxidante medida por el método de ABTS (ug Equiv. Trolox/g, bs)

Y= Capacidad antioxidante medida por el método de DPPH (ug Equiv. Trolox/g, bs)

Accesiones	X	Y
1	1277.78	400.15
2	1320.34	502.23
3	1214.63	402.47
4	1288.01	362.39
5	1257.86	445.93
6	1260.39	454.46
7	1253.58	219.28
8	1165.58	369.86
9	1185.63	545.24
10	1209.79	411.48
Total	12433.59	4113.49

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 444.1186999 - 0.02635578291 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	14.61762644	14.6176264	0.00166	F(1,8,0.95)	5.32	Ns
Error	8	70439.03536	8804.87942				
Total	9	70453.65299					

$H_p: \beta_1 = 0$

$H_a: \beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 0.00166 < F_{tab} = 5.32$  Se acepta la  $H_p$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$ , por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (capacidad antioxidante medida por el método del DPPH) sobre X (capacidad antioxidante medida por el método del ABTS) de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca, es no significativo.

**Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC(\text{Regresión}) / SC(\text{Total}) = 14.61762644 / 70453.65299 = 0.000207$$

El 0.021% de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida por el método del DPPH es explicada por la CA medida por el método del ABTS de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca.

**Coefficiente de correlación**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.014$$

Existe un 1.4% de asociación entre las dos variables: CA medida por el método del DPPH y CA medida por el método del ABTS de las 10 accesiones de kiwicha cruda en base seca.

**Anexo 21. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método del DPPH y los compuestos fenólicos totales**

**Regresión Lineal Simple**

X= Contenido de compuestos fenólicos totales (mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha cruda, bs)

Y= Capacidad antioxidante (mg Equivalente Trolox/100 g de kiwicha cruda, bs) según el método del DPPH.

Accesiones	X	Y
1	47.59	40.015
2	55.68	50.223
3	50.03	40.247
4	53.24	36.239
5	46.84	44.593
6	49.74	45.446
7	50.93	21.928
8	47.08	36.986
9	52.62	54.524
10	65.69	41.148
Total	519.44	411.349

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 30.8811 + 0.1974 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	11.0389	11.0389	0.1273	F(1,8,0.95)	5.32	Ns
Error	8	693.4976	86.6872				
Total	9	704.5365					

$H_p: \beta_1 = 0$

$H_a: \beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 0.1273$   $F_{tab} = 5.32$  Se acepta la  $H_p$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (la capacidad antioxidante: mg Equivalente Trolox/100 g de kiwicha cruda, bs) según el método del DPPH sobre X (el contenido de compuestos fenólicos totales: mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha cruda, bs) es no significativo.

**Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC (\text{Regresión}) / SC (\text{Total}) = 11.0389 / 704.5365 = 0.016$$

El 1.6% de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida mediante el método del DPPH es explicada por el contenido de fenólicos totales.

**Coefficiente de correlación:**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.13$$

Existe un 13% de asociación entre las dos variables: capacidad antioxidante medida mediante el método del DPPH y el contenido de fenólicos totales de las 10 accesiones de kiwicha.

**Anexo 22. Resultados de la relación entre la capacidad antioxidante por el método del ABTS y los compuestos fenólicos totales**

Regresión Lineal Simple

X= Contenido de compuestos fenólicos totales (mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha cruda, bs)

Y= Capacidad antioxidante (mg Equivalente Trolox/100 g de kiwicha cruda, bs) según el método del ABTS.

Accesiones	X	Y
1	47.59	127.778
2	55.68	132.034
3	50.03	121.463
4	53.24	128.801
5	46.84	125.786
6	49.74	126.039
7	50.93	125.358
8	47.08	116.558
9	52.62	118.563
10	65.69	120.979
Total	519.44	1243.359

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 124.2162 + 0.0023 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	0.001504	0.001504	0.000057	F(1,8,0.95)	5.32	Ns
Error	8	210.4369	26.30461				
Total	9	210.4384					

$H_p: \beta_1 = 0$

$H_a: \beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 0.000057$   $F_{tab} = 5.32$  Se acepta la  $H_p$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (la capacidad antioxidante: mg Equivalente Trolox/100 g de kiwicha cruda, bs) según el método del ABTS sobre X (el contenido de compuestos fenólicos totales: mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha cruda, bs) es no significativo.

**Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC(\text{Regresión}) / SC(\text{Total}) = 0.00150361546 / 210.4384119 = 0.00000714516$$

El 0.000714 % de la variación total observada en la capacidad antioxidante medida mediante el método del ABTS es explicada por el contenido de fenólicos totales.

**Coefficiente de correlación:**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.00267$$

Existe un 0.3% de asociación entre las dos variables: capacidad antioxidante medida mediante el método del ABTS y el contenido de fenólicos totales de las 10 accesiones de kiwicha.

**Anexo 23. Resultados de la cuantificación de fitatos de kiwicha cruda, expresados en (%)**

<b>Accesión</b>	<b>Fitatos (%)</b>	<b>Promedio (%)</b>	<b>DE</b>
2	0.63 0.62 0.78	0.6767	0.09

**Anexo 24. Resultado de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g. de la kiwicha tostada a 100°C y a 150°C en base húmeda**

Accesiones	100 °C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	49.3139 45.9527 50.2102	48.4923	2.24	46.8490 49.9861 50.2101	49.0151	1.88
2	51.3305 49.5379 52.2268	51.0317	1.37	61.4139 63.4305 63.8787	62.9077	1.31
5	53.5713 53.7953 57.8287	55.0651	2.40	66.5676 65.8954 64.5509	65.6713	1.03
6	48.1935 47.5213 50.4342	48.7163	1.52	56.2602 55.8120 56.9324	56.3349	0.56
9	54.4676 50.6583 54.6916	53.2725	2.27	61.1898 60.5176 60.2935	60.6670	0.47

**Anexo 25. Resultado de la cuantificación de compuestos fenólicos totales a 725 nm, expresados en mg de ácido gálico /100 g. de la kiwicha tostada a 100°C y a 150°C en base seca**

Accesiones	100 °C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	55.0071 51.2579 56.0069	54.09	2.50	52.2577 55.7569 56.0069	54.67	2.10
2	57.3525 55.3496 58.3540	57.01	1.53	68.6189 70.8721 71.3728	70.29	1.47
5	59.9701 60.2209 64.7360	61.64	2.68	74.5187 73.7663 72.2612	73.51	1.15
6	54.1014 53.3468 56.6167	54.69	1.71	63.1569 62.6538 63.9115	63.24	0.63
9	60.9871 56.7219 61.2379	59.65	2.54	68.5139 67.7613 67.5104	67.93	0.52

**Anexo 26. Análisis de varianza para ver el efecto del tostado en el contenido de fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha**

ANVA con DBCA

Para ver si existen diferencias significativas entre el contenido de compuestos fenólicos totales (en mg equivalente de ácido gálico/ 100 g de muestra en base seca de kiwicha cruda, tostada a 100°C y a 150°C

Accesiones	T° de Tostado			Total
	Crudo	100°C	150°C	
1	47.59	54.09	54.67	156.35
2	55.68	57.01	70.29	182.98
5	46.84	61.64	73.51	181.99
6	49.74	54.69	63.24	167.67
9	52.62	59.65	67.93	180.2
Total	252.47	287.08	329.64	869.19

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$ = Contenido de compuestos fenólicos totales (mg equivalente ácido gálico/100 g muestra) de la i-ésima T° de tostado y la j-ésima accesión de kiwicha.

$\mu$ = Contenido de compuestos fenólicos totales promedio (mg equivalente ácido gálico/100 g muestra) de la kiwicha tostada.

$\tau_i$  = El efecto de la i-ésima T° de tostado

$\beta_j$  = Efecto de la j-ésima accesión de kiwicha

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental observado en la variable respuesta  $Y_{ij}$ .

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign
Trats(T°tostado)	2	597.62764	298.814	18.16199	F(2,8,0.95)	4.46	*
Accesiones	4	178.12689	44.5317	2.7066	F(4,8,0.95)	3.84	ns
Error	8	131.62183	16.4527				
Total	14	907.37636					

Hp:  $\mu_1 = \mu_2$

Ha:  $\mu_1 \neq \mu_2$

$\alpha = 0.05$

Fcal= CMTrat/CMError= 18.16199 Ftab(2,8,0.95)= 4.46 Se rechaza la Hp

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la Hp por lo que se puede afirmar que en promedio el contenido de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada a 100°C o 150°C no son semejantes.

#### Prueba T : Para Tratamientos (T° de tostado)

Hp:  $\mu_1 = \mu_2$ . Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la Hp

Ha:  $\mu_1 < \mu_2$ .

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_1 - \hat{Y}_2) - 0}{Sd} \quad \hat{Y}_1 = 252.47/5 = 50.494 \quad \hat{Y}_2 = 287.08/5 = 57.416$$

$$Sd \quad \hat{Y}_3 = 329.64/5 = 65.928$$

$$Sd = \sqrt{CME(1/r_i + 1/r_j)} = \sqrt{16.4527(1/5 + 1/5)} = 2.5654$$

Tc= -6.922 / 2.5654= -2.6982 < Ttab= -1.86 Se rechaza la Hp

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha cruda es menor que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostadas a 100°C.

$H_p: \mu_1 = \mu_3$             Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_p$

$H_a: \mu_1 < \mu_3$ .

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_1 - \hat{Y}_3) - 0}{Sd}$$

$$T_c = (50.494 - 65.928) / 2.5654 = -6.0162 < T_{tab} = -1.86 \text{ Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha cruda es menor que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostadas a 150°C.

$H_p: \mu_2 = \mu_3$             Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_p$

$H_a: \mu_2 < \mu_3$ .

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_2 - \hat{Y}_3) - 0}{Sd}$$

$$T_c = (57.416 - 65.928) / 2.5654 = -3.3180 < T_{tab} = -1.86 \text{ Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostada a 100 °C es menor que el contenido promedio de fenólicos totales de las accesiones de kiwicha tostadas a 150°C.

**Para Bloque: Accesiones**

$H_p: \mu_1 = \mu_2 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_9$

$H_a: \text{Al menos un } \mu_i \neq \mu_j$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = \text{CMBloque} / \text{CMError} = 2.7066 \quad F_{tab}(4,8,0.95) = 3.84 \quad \text{Se acepta la } H_p$

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fenólicos totales de cada una de las accesiones son semejantes entre sí.

**Anexo 27. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con DPPH a 515 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base húmeda**

Accesiones	Tostado (100°C)	Promedio	DE	Tostado (150°C)	Promedio	DE
1	332.80 317.67 313.38	321.27	10.21	432.20 449.49 488.39	456.69	28.78
2	406.27 339.28 425.72	390.42	45.35	488.39 522.97 412.76	474.71	56.36
5	419.24 440.85 358.73	406.27	42.57	421.40 458.14 421.40	433.65	21.21
6	339.28 455.98 460.30	418.57	68.66	417.08 445.17 440.85	434.37	15.13
9	345.76 423.56 460.30	409.87	58.48	358.73 453.81 391.15	401.23	48.33

**Anexo 28. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con DPPH a 515 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base seca**

Accesiones	Tostado (100°C)	Promedio	DE	Tostado (150°C)	Promedio	DE
1	371.22 354.34 349.56	358.37	11.38	482.10 501.38 544.77	509.42	32.10
2	453.93 379.08 475.66	436.22	50.66	545.69 584.32 461.18	530.40	62.98
5	469.32 493.51 401.58	454.80	47.65	471.73 512.86 471.73	485.44	23.75
6	388.14 475.48 516.73	460.12	65.66	402.70 509.44 439.10	450.41	54.26
9	379.89 510.56 515.40	468.62	76.88	467.00 498.45 493.62	486.36	16.94

**Anexo 29-. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con ABTS a 734 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base húmeda**

Accesiones	Tostado (100°C)	Promedio	DE	Tostado (150°C)	Promedio	DE
1	809.24 886.95 836.03	844.07	39.47	743.59 801.20 881.59	808.79	69.31
2	1043.70 1016.91 1020.93	1027.18	14.45	1073.18 1116.05 1091.94	1039.72	21.49
5	1392.05 1229.94 1296.93	1306.31	181.46	1283.53 1251.37 1284.87	1273.26	18.97
6	1241.99 1259.41 1205.82	1253.74	27.34	1294.25 1304.96 1282.19	1239.8	11.39
9	1047.72 1099.98 1089.26	1078.99	27.60	1176.34 1259.41 1252.71	1229.49	46.15

**Anexo 30. Resultado de la cuantificación de la capacidad antioxidante para 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y 150°C con ABTS a 734 nm, expresado en ug eq Trolox/ g en base seca**

Accesiones	Tostado (100°C)	Promedio	DE	Tostado (150°C)	Promedio	DE
1	902.67 989.35 932.55	941.52	44.03	829.44 893.70 983.37	902.17	77.31
2	1166.14 1136.21 1140.70	1147.68	16.14	1199.08 1246.98 1220.04	1222.03	24.01
5	1558.32 1376.85 1451.84	1462.34	91.19	1436.84 1400.84 1438.34	1425.34	21.23
6	1394.24 1413.80 1353.64	1387.23	30.69	1452.91 1464.93 1439.37	1452.40	12.79
9	1173.13 1231.64 1219.64	1208.14	30.90	1317.14 1410.16 1402.64	1376.65	51.67

**Anexo 31. Análisis de varianza (ANVA) para ver el efecto del tostado en la capacidad antioxidante de las 5 accesiones de kiwicha**

Factorial AXB 3X2 A= T° de tostado , B= Metodología para hallar la capacidad antioxidante (DPPH o ABTS)

Accesiones Bloques	Temperatura de Tostado (°C) Factor A						Total
	Crudo (A1)		100°C(A2)		150°C (A3)		
	DPPH (B1)	ABTS (B2)	DPPH (B1)	ABTS (B2)	DPPH (B1)	ABTS (B2)	
1	400.15	1277.78	358.37	941.52	509.42	902.17	4389.41
2	502.23	1320.34	436.22	1147.68	530.4	1222.03	5158.9
5	445.93	1257.86	454.8	1462.34	485.44	1425.34	5531.71
6	454.46	1260.39	460.12	1387.23	450.41	1452.4	5465.01
9	545.24	1185.63	468.62	1208.14	486.36	1376.65	5270.64
<b>Total</b>	<b>2348.01</b>	<b>6302</b>	<b>2178.13</b>	<b>6146.91</b>	<b>2462.03</b>	<b>6378.59</b>	<b>25815.67</b>

	A1	A2	A3	B1	B2
<b>Total</b>	<b>8650.01</b>	<b>8325.04</b>	<b>8840.62</b>	<b>6988.17</b>	<b>18827.5</b>

$$Y_{ijk} = \mu + \rho_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

$Y_{ijk}$ = Capacidad antioxidante (ug Equivalente Trolox /g de tejido) de la kiwicha con la I-ésima temperatura de tostado, la j-ésima metodología para hallar la capacidad antioxidante de la k-ésima accesión de kiwicha.

$\mu$ = Capacidad antioxidante promedio (ug Equivalente Trolox /g de tejido) de la kiwicha tostada.

$\rho_k$ = Efecto de la k-ésima accesión de kiwicha

$\alpha_i$ = efecto de la i-ésima temperatura de tostado.

$\beta_j$ = Efecto de la j-ésima metodología (DPPH o ABTS) para hallar la capacidad antioxidante de la kiwicha tostada.

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto conjunto (o de interacción) de la i-ésima temperatura de tostado y la j-ésima metodología para la determinación de la capacidad antioxidante.

$e_{ijk}$ = Error experimental observado en  $Y_{ijk}$ .

Fuente de Variabilidad	GL	Suma de Cuadrados	Cuadrado Medio	Fcal	Ftab	Significancia
Accesiones	4	139533.62	34883.4	2.59	F(4,20,0.95)= 2.87	ns
A (T° de tostado)	2	13592.02	6796.01	0.5046	F(2,20,0.95)= 3.49	ns
B (Metodología)	1	4672324.5	4672324.5	346.93	F(1,20,0.95)= 4.35	*
(AB)	2	144.88439	72.44	0.00538	F(2,20,0.95)= 3.49	ns
Error	20	269351.42	13467.57			
Total	29	5094946.44				

$H_p: (\alpha\beta)_{ij}= 0$  ; Para  $i, j$

$H_a$ : al menos un  $(\alpha\beta)_{ij} \neq 0$  ,  $i= 1, 2$  ;  $j= 1, 2$

$\alpha= 0.05$

Fcal= CM(AB)/ CM(Error) = 0.00538 Ftab(2, 20, 0.95)= 3.49 Se acepta la  $H_p$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significancia que nos permite rechazar la  $H_p$ , por lo que se puede afirmar que no existe efecto significativo para la interacción entre la temperatura de tostado y la metodología (DPPH o ABTS) usada para determinar la capacidad antioxidante de la kiwicha tostada.

Analizando los efectos por separado de cada factor tenemos:

#### **FACTOR A: TEMPERATURA DE TOSTADO**

$H_p: \alpha_i = 0$  Para  $i = 1, 2$

$H_a:$  al menos un  $\alpha_i \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = CM(A) / CM(Error) = 0.5046$   $F_{tab}(2,20,0.95) = 3.49$  Se acepta la  $H_p$

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que la capacidad antioxidante de las accesiones de kiwicha cruda o a la temperatura de tostado de 100 °C y 150°C son semejantes.

#### **FACTOR B: METODOLOGÍA (ABTS o DPPH) PARA DETERMINAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

$H_p: \beta_j = 0$  Para  $j = 1, 2$

$H_a:$  al menos un  $\beta_j \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = CM(B)/CM(Error) = 346.93$   $F_{tab}(1,20,0.95) = 4.35$  Se rechaza la  $H_p$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$ , por lo que se puede afirmar que la capacidad antioxidante de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada no son semejantes ya sea con la metodología de DPPH o ABTS.

**Prueba de Tuckey Factor B (Metodología)** B1= DPPH ( $\hat{Y}.1.$ ), B2= ABTS ( $\hat{Y}.2.$ )

$$\left. \begin{array}{l} P=2 \text{ (2 metodologías)} \\ GL \text{ (Error)}= 20 \\ \alpha=0.05 \end{array} \right\} \begin{array}{l} AES(T) = 2.95 \\ Sd = \sqrt{\frac{CME(1/15 + 1/15)}{2}} = 29.963945 \end{array}$$

$$ALS(T) = AES(T) \times Sd = 88.39$$

$$\hat{Y}.1. = 465.878$$

$$\hat{Y}.2. = 1255.17$$

Comparaciones	$ \hat{Y}.1. - \hat{Y}.2.  $	ALS(T)	
$H_p: \mu.1. = \mu.2.$	789.292	> 88.39	* Sign. Se rechaza
la $H_p$			
$H_a: \mu.1. \neq \mu.2.$			

**Prueba T**

$H_p: \mu.1. = \mu.2.$  Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_p$

$H_a: \mu.1. < \mu.2.$

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_{1.} - \hat{Y}_{2.}) - 0}{S_d} \quad \hat{Y}_{1.} = 465.878 \quad \hat{Y}_{2.} = 1255.17$$

$$S_d = \sqrt{CME(1/r_i + 1/r_j)} = \sqrt{13467.57(1/15 + 1/15)} = 42.3754$$

$$T_c = -789.292 / 42.3754 = -18.6262 < T_{tab} = -1.725 \quad \text{Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5 % de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$ , por lo que se puede afirmar que la capacidad antioxidante promedio de las accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada es significativamente menor con la metodología DPPH que con la metodología ABTS.

#### **Para los BLOQUES: ACCESIONES**

$H_p: \rho_k = 0$  Para  $k = 1, 2, 5, 6, 9$

$H_a: \rho_k \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$$F_{cal} = CM(\text{Bloque}) / CM(\text{Error}) = 2.59 \quad F_{tab}(4, 20, 0.95) = 2.87 \quad \text{Se acepta la } H_p$$

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al nivel de 5% de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que la capacidad antioxidante de las diferentes accesiones de kiwicha ya sea cruda o tostada son semejantes.

**Anexo 32. Resultados del contenido de fitatos en la accesión 2 de kiwicha, bh**

Accesión	Cruda	Prom	DE	100°C	Prom	DE	150°C	Prom	DE
2	0.63	0.6767	0.09	0.37	0.36	0.01	0.37	0.3637	0.01
	0.62			0.35			0.37		
	0.78			0.36			0.36		

**Anexo 33. Resultados del contenido de fitatos en la accesión 2 de kiwicha, bs**

Accesión	Cruda	Prom	DE	100°C	Prom	DE	150°C	Prom	DE
2	0.7039	0.7560	0.1	0.4134	0.4022	0.01	0.4134	0.4097	0.006
	0.6927			0.3911			0.4134		
	0.8715			0.4022			0.4022		

**Anexo 34. ANVA con DCA para ver el efecto del tostado en el contenido de fitatos (%) de la accesión 2 de kiwicha en base seca**

Repeticiones	T° de tostado			Total
	Cruda	100°C	150°C	
1	0.7039	0.4134	0.4134	1.5307
2	0.6927	0.3911	0.4134	1.4972
3	0.8715	0.4022	0.4022	1.6759
Total	2.2681	1.2067	1.229	4.7038

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = Contenido de fitatos (en %) de la j-ésima accesión 2 de kiwicha con la i-ésima temperatura de tostado.

$\mu$  = Contenido de fitatos promedio (en %) de la kiwicha tostada

$\tau_i$  = El efecto de la i-ésima T° de tostado

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental observado en la variable respuesta  $Y_{ij}$ .

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign
Trats(T°tostado)	2	0.2452	0.1226	36.0697	F(2,6,0.95)	5.14	*
Error	6	0.0204	0.0034				
Total	8	0.2656					

$$H_p: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$$

$$\alpha = 0.05$$

Fcal = CMTrat/CMError = 36.0697      Ftab(2,6,0.95) = 5.14      Se rechaza la  $H_p$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$ , por lo que se puede afirmar que el contenido de fitatos promedio (en %) de la accesión 2 de kiwicha no es semejante ya sea cruda o tostada a 100°C o a 150°C.

**Prueba T : Para Tratamientos (T° de tostado)**

$H_p: \mu_1 = \mu_2.$  Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_p$

$H_a: \mu_1 > \mu_2.$

$\alpha = 0.05$

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_1 - \hat{Y}_2) - 0}{Sd} \quad \hat{Y}_1 = 2.2681 / 3 = 0.7560 \quad \hat{Y}_2 = 1.2067 / 3 = 0.4022$$

$$Sd \quad \hat{Y}_3 = 1.229 / 3 = 0.4097$$

$$Sd = \sqrt{CME(1/r_i + 1/r_j)} = \sqrt{0.00339897(1/3 + 1/3)} = 0.0476$$

$$T_c = 0.3538 / 0.0476 = 7.4328 > T_{tab} = 1.943 \text{ Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha cruda es mayor que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 100°C.

$H_p: \mu_1 = \mu_3.$  Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_p$

$H_a: \mu_1 > \mu_3.$

$\alpha = 0.05$

$$T_c = 7.2752 > T_{tab} = 1.943 \text{ Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha cruda es mayor que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 150°C.

$H_0: \mu_3 = \mu_2$                       Si  $t_{cal} < t(\alpha, GLEE)$  Se rechaza la  $H_0$

$H_a: \mu_3 > \mu_2$ .

$\alpha = 0.05$

$T_c = 0.1576 < T_{tab} = 1.943$  Se acepta la  $H_0$

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$  por lo que se puede afirmar que el contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 150°C es semejante al contenido promedio de fitatos de la accesión 2 de kiwicha tostada a 100°C.

**Anexo 35. Resultados del contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y a 150°C, en base húmeda**

Accesiones	100°C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	14.78	14.67	0.10	13.18	13.49	0.31
	14.60			13.80		
	14.62			13.48		
2	13.75	13.92	0.15	12.65	12.32	0.28
	14.00			12.19		
	14.02			12.13		
5	14.21	14.09	0.23	12.37	12.36	0.04
	13.83			12.32		
	14.24			12.40		
6	14.30	14.24	0.06	12.26	12.07	0.16
	14.18			11.97		
	14.24			11.98		
9	15.24	15.12	0.12	12.83	12.85	0.04
	15.13			12.90		
	15.00			12.82		

**Anexo 36. Resultados del contenido de proteína de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C y a 150°C, en base seca**

Accesiones	100°C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	16.49	16.36	0.11	14.70	15.04	0.34
	16.29			15.39		
	16.31			15.04		
2	15.36	15.55	0.17	14.13	13.77	0.32
	15.64			13.62		
	15.66			13.55		
5	15.91	15.78	1.26	13.85	13.84	0.05
	15.48			13.79		
	15.94			13.88		
6	16.05	15.98	0.07	13.76	13.55	0.18
	15.92			13.44		
	15.96			13.45		
9	17.06	16.93	0.13	14.37	14.39	0.05
	16.94			14.44		
	16.79			14.35		

**Anexo 37. Resultados de la digestibilidad *in vitro* de proteína de 5 accesiones de kiwicha en base húmeda tostada a 100°C y 150°C**

Accesiones	100°C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	85.73	85.55	0.48	85.55	85.01	0.79
	85.91			85.37		
	85.01			84.10		
2	84.47	84.83	0.48	83.02	83.98	0.91
	85.37			84.83		
	84.65			84.10		
5	84.82	85.19	0.36	83.38	83.02	0.31
	85.19			82.84		
	85.55			82.84		
6	84.10	84.65	0.48	83.20	83.80	0.76
	84.83			83.56		
	85.01			84.65		
9	84.47	85.31	0.75	85.01	84.40	1.88
	85.55			82.29		
	85.91			85.91		

**Anexo 38. Resultados de la digestibilidad *in vitro* de proteína de 5 accesiones de kiwicha en base seca tostada a 100°C y 150°C**

Accesiones	100°C	Promedio	DE	150°C	Promedio	DE
1	95.63	95.43	0.53	95.43	94.82	0.88
	95.83			95.23		
	94.82			93.81		
2	94.38	94.78	0.53	92.76	93.84	1.02
	95.38			94.78		
	94.58			93.97		
5	94.95	95.36	0.41	93.34	92.93	0.35
	95.36			92.73		
	95.77			92.73		
6	94.41	95.02	0.54	93.40	94.08	0.85
	95.23			93.80		
	95.43			95.03		
9	94.58	95.52	0.84	95.18	94.50	2.11
	95.79			92.14		
	96.19			96.19		

**Anexo 39. pH a través del tiempo (10 minutos) de incubación con la solución multienzimática de la proteína de kiwicha tostada a a: 100°C, b: 150°C de las 5 accesiones de kiwicha con mayor capacidad antioxidante en crudo. P: Promedio**

Acces	0'	1'	2'	3'	4'	5'	6'	7'	8'	9'	10'
1a	7.34	7.15	7.12	7.05	7.01	6.97	6.95	6.92	6.91	6.9	6.89
1a	7.53	7.25	7.15	7.09	7.05	7.02	6.99	6.97	6.94	6.91	6.88
1a	7.91	7.23	7.14	7.08	7.04	7.01	6.98	6.97	6.95	6.94	6.93
<b>P1a</b>	<b>7.593</b>	<b>7.21</b>	<b>7.137</b>	<b>7.073</b>	<b>7.033</b>	<b>7</b>	<b>6.973</b>	<b>6.953</b>	<b>6.933</b>	<b>6.917</b>	<b>6.9</b>
1b	7.41	7.25	7.18	7.11	7.05	7.02	6.98	6.96	6.94	6.91	6.9
1b	7.42	7.28	7.25	7.19	7.13	7.07	7.01	6.97	6.94	6.93	6.91
1b	7.91	7.3	7.23	7.18	7.13	7.11	7.06	7.04	7.01	7	6.98
<b>P1b</b>	<b>7.58</b>	<b>7.277</b>	<b>7.22</b>	<b>7.16</b>	<b>7.103</b>	<b>7.067</b>	<b>7.017</b>	<b>6.99</b>	<b>6.963</b>	<b>6.947</b>	<b>6.93</b>
2a	7.45	7.29	7.18	7.13	7.08	7.05	7.03	7	6.99	6.97	6.96
2a	7.56	7.37	7.22	7.13	7.05	7.02	6.99	6.96	6.94	6.92	6.91
2a	7.91	7.28	7.12	7.06	7.01	6.99	6.98	6.96	6.97	6.96	6.95
<b>P2a</b>	<b>7.64</b>	<b>7.313</b>	<b>7.173</b>	<b>7.107</b>	<b>7.047</b>	<b>7.02</b>	<b>7</b>	<b>6.973</b>	<b>6.967</b>	<b>6.95</b>	<b>6.94</b>
2b	7.91	7.44	7.3	7.23	7.18	7.15	7.13	7.11	7.09	7.08	7.04
2b	7.63	7.36	7.22	7.14	7.09	7.06	7.04	7.02	6.97	6.96	6.94
2b	7.91	7.28	7.16	7.1	7.06	7.04	7.02	7.01	7	6.99	6.98
<b>P2b</b>	<b>7.817</b>	<b>7.36</b>	<b>7.227</b>	<b>7.157</b>	<b>7.11</b>	<b>7.083</b>	<b>7.063</b>	<b>7.047</b>	<b>7.02</b>	<b>7.01</b>	<b>6.987</b>
5a	5.51	7.26	7.16	7.09	7.05	7.03	7	6.98	6.96	6.95	6.94
5a	7.91	7.3	7.15	7.07	7.02	6.99	6.97	6.95	6.94	6.93	6.92
5a	8	7.36	7.26	7.17	7.12	7.07	7.01	6.97	6.94	6.92	6.9
<b>P5a</b>	<b>7.14</b>	<b>7.307</b>	<b>7.19</b>	<b>7.11</b>	<b>7.063</b>	<b>7.03</b>	<b>6.993</b>	<b>6.967</b>	<b>6.947</b>	<b>6.933</b>	<b>6.92</b>
5b	7.91	7.34	7.25	7.18	7.15	7.11	7.08	7.07	7.05	7.04	7.02
5b	7.91	7.39	7.29	7.22	7.17	7.14	7.12	7.09	7.07	7.06	7.05
5b	8	7.33	7.26	7.21	7.17	7.14	7.12	7.1	7.08	7.07	7.05
<b>P5b</b>	<b>7.94</b>	<b>7.353</b>	<b>7.267</b>	<b>7.203</b>	<b>7.163</b>	<b>7.13</b>	<b>7.107</b>	<b>7.087</b>	<b>7.067</b>	<b>7.057</b>	<b>7.04</b>
6a	7.91	7.3	7.18	7.12	7.07	7.05	7.02	7.01	7	6.99	6.98
6a	7.91	7.28	7.14	7.07	7.03	7.01	6.98	6.97	6.96	6.95	6.94
6a	8	7.28	7.18	7.12	7.08	7.05	7.03	7.02	6.99	6.96	6.93
<b>P6a</b>	<b>7.94</b>	<b>7.287</b>	<b>7.167</b>	<b>7.103</b>	<b>7.06</b>	<b>7.037</b>	<b>7.01</b>	<b>7</b>	<b>6.983</b>	<b>6.967</b>	<b>6.95</b>
6b	7.91	7.37	7.27	7.21	7.16	7.12	7.1	7.07	7.06	7.04	7.03
6b	7.71	7.34	7.24	7.18	7.11	7.1	7.07	7.06	7.04	7.03	7.01
6b	8	7.35	7.22	7.14	7.1	7.05	7.02	7.01	6.98	6.97	6.95
<b>P6b</b>	<b>7.873</b>	<b>7.353</b>	<b>7.243</b>	<b>7.177</b>	<b>7.123</b>	<b>7.09</b>	<b>7.063</b>	<b>7.047</b>	<b>7.027</b>	<b>7.013</b>	<b>6.997</b>
9a	7.87	7.33	7.21	7.14	7.09	7.05	7.03	7.01	6.99	6.98	6.96
9a	7.81	7.24	7.14	7.08	7.04	7	6.96	6.94	6.93	6.91	6.9
9a	8	7.2	7.1	7.04	6.99	6.96	6.93	6.91	6.9	6.89	6.88
<b>P9a</b>	<b>7.893</b>	<b>7.257</b>	<b>7.15</b>	<b>7.087</b>	<b>7.04</b>	<b>7.003</b>	<b>6.973</b>	<b>6.953</b>	<b>6.94</b>	<b>6.927</b>	<b>6.913</b>
9b	8	7.32	7.19	7.11	7.06	7.03	7	6.97	6.96	6.94	6.93
9b	8	7.39	7.27	7.2	7.17	7.14	7.11	7.1	7.09	7.08	7.08
9b	8	7.37	7.23	7.11	7.04	6.99	6.96	6.93	6.91	6.9	6.88
<b>P9b</b>	<b>8</b>	<b>7.36</b>	<b>7.23</b>	<b>7.14</b>	<b>7.09</b>	<b>7.053</b>	<b>7.023</b>	<b>7</b>	<b>6.987</b>	<b>6.973</b>	<b>6.963</b>

**Anexo 40. ANVA con DBCA para ver el efecto de la temperatura de tostado en el porcentaje de digestibilidad *in vitro* de proteína en 5 accesiones de kiwicha en base seca**

Accesiones ó Bloques	T° de tostado		Total
	T° 100°C	T° 150°C	
1	95.43	94.82	190.25
2	94.78	93.84	188.62
5	95.36	92.93	189.29
6	95.02	94.08	189.10
9	95.52	94.50	190.02
Total	476.11	470.17	946.28

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \epsilon_{ij}$$

$Y_{ij}$  = Digestibilidad *in vitro* de proteína (en %) de la  $i$ -ésima T° de tostado y la  $j$ -ésima accesión de kiwicha.

$\mu$  = Digestibilidad promedio *in vitro* de proteína (en %) de la kiwicha tostada.

$\tau_i$  = El efecto de la  $i$ -ésima T° de tostado

$\beta_j$  = Efecto de la  $j$ -ésima accesión de kiwicha

$\epsilon_{ij}$  = Error experimental observado en la variable respuesta  $Y_{ij}$ .

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign
Trats (T°tostado)	1	3.52836	3.52836	13.9194	F(1,4,0.95)	7.71	*
Accesiones	4	1.46686	0.366715	1.4467	F(4,4,0.95)	6.39	ns
Error	4	1.01394	0.253485				
Total	9	6.00916					

$$H_p: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 \neq \mu_2$$

$$\alpha = 0.05$$

$$F_{cal} = CM_{Trat} / CM_{Error} = 13.9194 \quad F_{tab}(1,4,0.95) = 7.71 \quad \text{Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que en promedio la digestibilidad *in vitro* de proteína (en %) de las accesiones de kiwicha tostada a la  $T^\circ$  de 100°C y 150°C no son semejantes.

**Prueba T : Para Tratamientos ( $T^\circ$  de tostado)**

$$H_p: \mu_2 = \mu_1. \quad \text{Si } t_{cal} < t(\alpha, GLEE) \quad \text{Se rechaza la } H_p$$

$$H_a: \mu_2 < \mu_1.$$

$$T_{cal} = \frac{(\hat{Y}_1 - \hat{Y}_2) - 0}{Sd} \quad \hat{Y}_1 = 476.11 / 5 = 95.222 \quad \hat{Y}_2 = 470.17 / 5 = 94.034$$

$$Sd = \sqrt{CME(1/r_i + 1/r_j)} = \sqrt{0.253485(1/5 + 1/5)} = 0.3184242453$$

$$T_{cal} = -1.188 / 0.3184242453 = -3.730871683 < T_{tab} = -2.132 \quad \text{Se rechaza la } H_p$$

**Conclusiones:** Existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_p$  por lo que se puede afirmar que la digestibilidad *in vitro* de proteína promedio de las accesiones de kiwicha tostada es significativamente menor con la  $T^\circ$  de tostado de 150°C que con la temperatura de tostado de 100°C.

**Para Bloque: Accesiones**

$$H_p: \mu_1 = \mu_2 = \mu_5 = \mu_6 = \mu_9$$

$H_a$ : Al menos un  $\mu_i \neq \mu_j$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = \text{CMBloque} / \text{CMError} = 1.4467$   $F_{tab}(4,4,0.95) = 6.39$  Se acepta la  $H_0$

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$  por lo que se puede afirmar que el % promedio de digestibilidad *in vitro* de proteína de cada una de las accesiones son semejantes entre sí.

**Anexo 41. Resultados de la relación entre la digestibilidad *in vitro* de proteína y los compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 100°C en base seca**

**Regresión Lineal Simple**

X= Contenido de compuestos fenólicos totales (mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha tostada a 100°C, base seca)

Y= Digestibilidad *in vitro* de proteína (%) de kiwicha tostada a 100°C en base seca.

Accesiones	X	Y
1	54.09	95.43
2	57.01	94.78
5	61.64	95.36
6	54.69	95.02
9	59.65	95.52
Total	287.08	476.11

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 93.44111333 + 0.0310172543 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	0.039917	0.039917	0.3447	F(1,3,0.95)	10.13	Ns
Error	3	0.347363	0.1157875				
Total	4	0.38728					

H<sub>p</sub>:  $\beta_1 = 0$

H<sub>a</sub>:  $\beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 0.3447 < F_{tab} = 10.13$  Se acepta la  $H_0$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$ , por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (la digestibilidad in vitro de proteína de la kiwicha tostada a 100°C) sobre X (el contenido de compuestos fenólicos totales: mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha tostada a 100°C, bs) es no significativo.

**Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC (\text{Regresión}) / SC (\text{Total}) = 0.103070$$

El 10.31% de la variación total observada en la digestibilidad in vitro de proteína de la kiwicha tostada a 100°C en base seca, es explicado por el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C en base seca.

**Coefficiente de correlación**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.32$$

Existe un 32% de asociación entre las dos variables: digestibilidad in vitro de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 100°C en base seca.

**Anexo 42. Resultados de la relación entre la digestibilidad *in vitro* de proteína y los compuestos fenólicos totales de las 5 accesiones de kiwicha tostada a 150°C en base seca**

**Regresión Lineal Simple**

X= Contenido de compuestos fenólicos totales (mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha tostada a 150°C, base seca)

Y= Digestibilidad in vitro de proteína (%) de kiwicha tostada a 150°C en base seca.

Accesiones	X	Y
1	54.67	94.82
2	70.29	93.84
5	73.51	92.93
6	63.24	94.08
9	67.93	94.50
Total	329.64	470.17

La ecuación de regresión estimada es:

$$\hat{Y} = b_0 + b_1 X_i \quad \hat{Y} = 99.3381 - 0.08045 X_i$$

F de V	GL	SC	CM	Fcal	Ftab	Ftab	Sign.
Regresión	1	1.3883	1.3883	5.90515	F(1,3,0.95)	10.13	Ns
Error	3	0.7052	0.2351				
Total	4	2.09352					

Hp:  $\beta_1 = 0$

Ha:  $\beta_1 \neq 0$

$\alpha = 0.05$

$F_{cal} = 5.90515 < F_{tab} = 10.13$  Se acepta la  $H_0$ .

**Conclusiones:** No existe suficiente evidencia estadística al 5% de nivel de significación que nos permite rechazar la  $H_0$ , por lo que se puede afirmar que el efecto de la regresión lineal de Y (la digestibilidad *in vitro* de proteína de la kiwicha tostada a 150°C en base seca) sobre X (el contenido de compuestos fenólicos totales: mg equivalente ácido gálico/ 100 g de muestra de kiwicha tostada a 150°C, base seca) es no significativo.

#### **Coefficiente de determinación:**

$$R^2 = SC(\text{Regresión}) / SC(\text{Total}) = 1.3883 / 2.09352 = 0.6631$$

El 66.31% de la variación total observada en la digestibilidad *in vitro* de proteína de la kiwicha tostada a 150°C en base seca, es explicado por el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 150°C en base seca.

#### **Coefficiente de correlación**

$$R = \sqrt{R^2} = 0.81$$

Existe un 81% de asociación entre las dos variables: digestibilidad *in vitro* de proteína y el contenido de compuestos fenólicos totales de la kiwicha tostada a 150°C en base seca.